

University of Groningen

Stoornissen in de follikelrijping bij ovulatie-inductie met Clomipheen

Lappöhn, Richard Elzo

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Early version, also known as pre-print

Publication date:

1977

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Lappöhn, R. E. (1977). *Stoornissen in de follikelrijping bij ovulatie-inductie met Clomipheen*. [, Rijksuniversiteit Groningen]. [S.n.].

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Stoornissen in de follikelrijping bij ovulatie-inductie met Clomipheen

R.E. Lappöhn

**STOORNISSEN IN DE FOLLIKELRIJPING
BIJ OVULATIE-INDUCTIE MET
CLOMIPHEEN**

Stellingen

1. De bilaterale wigexcisie uit de ovaria is geen obsoleete ingreep.
2. Idiopathisch hirsutisme wordt niet veroorzaakt door een ovariële functiestoornis; de afwijking kan wel door ovariële activiteit worden onderhouden.
Kirschner M.A. et al, New Engl.J.Med. 294:637,1976
3. Het is niet mogelijk om met remming en stimulatie van het dopaminerge systeem uit te maken of een hyperprolactinaemiesyndroom door een hypofyse adenoom of door een hypothalamische stoornis wordt veroorzaakt.
4. Omdat de toename van het plasma-oestradiol in de follikelfase exponentieel verloopt is bij de ovulatie-inductie met exogene gonadotropinen dagelijkse bepaling van het plasma-oestradiol niet noodzakelijk.
5. Bij de vaginale uterusxstirpatie is adequate drainage van het wondbed de beste manier om de post-operatieve morbiditeit te verminderen.
6. Clomipheen heeft "dopaminerge" eigenschappen.
7. Zo laparoscopie bij de diagnostiek van het polycysteuze ovarium al is geïndiceerd, is de macroscopische inspectie van de ovaria van méér belang dan het resultaat van histologisch onderzoek der met de gebruikelijke biopsie-instrumenten genomen biopten.

8. Bij menorrhagieën zonder anatomisch substraat dient gedacht te worden aan overmatig gebruik van acetylsalicylzuur.
9. Omdat bij de behandeling van hirsutisme met cyproteronacetaat behalve onderdrukking van de hypothalamo-ovariële as ook onderdrukking van de hypothalamo-adrenale as op kan treden dient dit middel met grote terughoudendheid te worden toegepast.
10. De vorm van "remedial teaching" aan kinderen met leerstoornissen, waarbij er de voorkeur aan wordt gegeven het kind in de eigen school en in schooltijd, maar gescheiden van de klasgenoten, te behandelen, geeft het kind de indruk dat het "anders" en "minder" is dan zijn klasgenoten en is alleen daarom al verwerpelijk.
11. De onzekere duur van de dracht bij het IJslandse paard wordt met grote waarschijnlijkheid veroorzaakt door het optreden van embryonale diapauze (uitgestelde innesteling van het bevruchte ei).
12. De pogingen van de elektronische industrie om in de huiskamer gereproduceerde muziek natuurgetrouw te doen klinken, hebben geen kans van slagen omdat steeds één dimensie zal ontbreken.
13. Het verkeerscirculatieplan voor de Groninger binnenstad heeft kenmerken van een generaliseerde thrombose.
14. Het is te betreuren, dat onze kennis van biologische rhythmten onvoldoende is om haar in ons therapeutisch handelen te kunnen betrekken.

RIJKSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN

Stoornissen in de follikelrijping bij ovulatie-inductie met Clomipheen

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN HET DOCTORAAT IN DE GENEESKUNDE
AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE GRONINGEN
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS DR. M. J. JANSSEN
IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG 1 JUNI 1977
DES NAMIDDAGS TE 2.45 UUR PRECIES

DOOR

Richard Elzo Lappöhn

geboren te Beverwijk

PROMOTORES: PROF. DR. L. A. JOOSSE
PROF. DR. H. DOORENBOS
REFERENT: PROF. DR. J. JANSSENS

Voor Kim, Ernst, Wendela en Mette,
die hun vader al die jaren betrekkelijk
met rust hebben gelaten.

Dit proefschrift werd bewerkt in de Kliniek voor Obstetrie en Gynaecologie van de Rijksuniversiteit te Groningen (destijds hoofd: Prof. Dr. L.A. Joosse, thans Prof. Dr. J. Janssens).

In het Centraal Isotopen Laboratorium (hoofd: Prof. Dr. M.G. Woldring) werden onder leiding van Mejuffrouw A.K. van Zanten de LH- en FSH-bepalingen verricht. De bepalingen van oestradiol en testosteron geschieden onder leiding van de heer J.J. Pratt, B.Sc.

Op de afdeling gaschromatografie van het Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium (hoofd: Dr. A. Groen) werden onder leiding van Dr. B.G. Wolthers en de heer J. van der Meulen de bepalingen van pregnaandiol en pregnaantriol verricht.

Het histologisch onderzoek werd merendeels verricht door Drs. J.W. Oosterhuis, enzym-histochemisch onderzoek door Dr. M.J. Hardonk, beiden werkzaam op het Pathologisch-Anatomisch Laboratorium (hoofd: Prof. Dr. Ph.J. Hoedemaeker).

De fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm werden bepaald door de heer J. Kuiken.

Dr. L.Th. van der Weele was zo vriendelijk kritisch commentaar te leveren bij de statistische bewerkingen. Mejuffrouw A.M. Heiting was behulpzaam bij het verzamelen van de literatuurgegevens en Mevrouw D. Weltevreden Sotthewes heeft de vele versies van het manuscript getypt.

Inhoudsopgave

I Inleiding en vraagstelling.

II Farmacologische eigenschappen en werkingsmechanisme van clomipheen.

2.1. Inleiding.

2.2. De oestrogeen-receptor interactie en de anti-oestrogene effecten van clomipheen.

2.2.1. De oestrogeen-receptor interactie.

2.2.2. De anti-oestrogene effecten van clomipheen.

2.3. De regeling van de hypofysaire LH en FSH afgifte en de beïnvloeding daarvan door clomipheen.

2.3.1. Het effect van oestradiol op de LH en FSH afgifte door de hypofyse.

2.3.2. De invloed van clomipheen op de LH en FSH afgifte in het regelmechanisme.

2.4. Het werkingsmechanisme van clomipheen als ovulatie-inducerende stof.

2.4.1. Dierproeven ter verklaring van het werkingsmechanisme op hypothalamo-hypofysair niveau.

2.4.2. In vitro onderzoeken en dierproeven ter verklaring van het werkingsmechanisme op ovariëel niveau.

2.4.3. De invloed van clomipheen op de gonadotropinenafgifte en de ovariële steroidproductie bij de mens.

2.4.4. De tijdsrelatie van het clomipheeneffect met de ovariële activiteit.

2.5. Beschouwing.

- 5.3.2. Uitvoering van de toetsing op normaliteit met behulp van probits.
- 5.3.3. De verdelingswijze van de gemeten pregnaandiol en pregnaantriol waarden.
- 5.3.4. De rankit test toegepast op de gemeten waarden van de afzonderlijke dagen.
- 5.4. De referentie curves van de gonadotropinen.
 - 5.4.1. Het "95% betrouwbaarheidsinterval".
 - 5.4.2. Het patroon van de LH en FSH afgifte.
 - 5.4.3. Bespreking van de gevonden curves; vergelijking met de literatuur.
 - 5.4.3.1. LH.
 - 5.4.3.2. FSH.
 - 5.4.3.3. Oestradiol.
 - 5.4.3.4. Testosteron.
 - 5.4.3.5. Pregnaandiol.
 - 5.4.3.6. Pregnaantriol.
- 5.5. Beschouwing.

VI

Patiënten onderzoek: selectie en indeling in groepen.

- 6.1.1. Herkomst van de patiënten.
- 6.1.2. Oriënterend onderzoek.
- 6.2. Onderzoek van de hypothalamo-ovariële as.
 - 6.2.1. Progesteron belastingstest (PBT).
 - 6.2.2. Dexamethason/HCG test.
 - 6.2.3. Laparoscopie en ovariumbiopsie; tuba-doorgankelijkheid.
 - 6.2.4. Toediening van clomipheen.
- 6.3. Selectie.
 - 6.3.1. Noodzakelijke voorwaarden voor opname in de onderzoeksgroep.
 - 6.3.2. Definities van klinische kenmerken; verdeling in groepen.

IV

Bepalingsmethoden van de steroïden en eiwithormonen in het bloed en van hormoonmetabolieten in de urine.

4.1.1. Inleiding.

4.1.2. Principes van het radio-immuno-assay.

4.2. De bepaling van eiwithormonen.

4.2.1. Bepaling van LH en FSH in het serum: standaarden, antisera, tracers.

4.2.2. Uitvoering van de bepaling.

4.2.3. Kwaliteit van de bepaling.

4.3. De bepaling van oestradiol en van testosteron.

4.3.1. Bepaling van oestradiol in het plasma: antisera.

4.3.2. Uitvoering van de bepaling.

4.3.3. Kwaliteit van de bepaling.

4.3.4. Bepaling van plasma-testosteron.

4.3.5. Kwaliteit van de bepaling.

4.4. Progesteron en zijn metabolieten.

4.4.1. De waarde van de bepaling van pregnandiol in de urine.

4.4.2. Uitvoering van de bepalingen.

4.4.3. Kwaliteit van de bepalingen.

4.4.4. Verantwoording van het gebruik van ochtendurines in plaats van 24 uren monsters.

V

Het verloop van de gemeten hormoonwaarden in spontane cycli.

5.1. Beschrijving van de proefpersonen en van de wijze waarop de bloed- en urinemonsters werden verzameld.

5.2. Gegevens van de onderzoekscycli.

5.3. Onderzoek naar de verdelingswijze van de verkregen hormoonwaarden.

5.3.1. Inleiding.

III

Bespreking van de literatuur over de klinische toepassing van clomipheen.

3.1. Resultaten en bijwerkingen; de conceptieverwachting na clomipheen behandeling.

3.1.1. Patiëntenselectie, doseringsschema's.

3.1.2. Klinische resultaten bij verschillende ziektebeelden; bijwerkingen.

3.1.3. De conceptieverwachting in de "normale" populatie.

3.1.4. Vergelijking met de conceptieverwachting bij clomipheen behandeling.

3.1.5. Hypothesen ter verklaring van het geringe aantal na clomipheen behandeling ontsta-
ne zwangerschappen.

3.2. Hormoon-afhankelijke factoren in de follikelfase die tot uitblijven van conceptie kunnen leiden.

3.2.1. Stoornissen in de prae-ovulatoire periode; slecht cervixslijm.

3.2.2. Behandeling van slecht cervixslijm ("cervical hostility") met oestrogenen.

3.2.3. Argumenten ter verklaring van het geringe resultaat van oestrogeen behandeling.

3.3. Hormoon-afhankelijke factoren die in de luteale fase tot uitblijven van conceptie kunnen leiden.

3.3.1. Luteale insufficiëntie.

Diagnose met behulp van endometriumhistologie.

Diagnose met behulp van hormoonbepalingen.

3.3.2. De spiegel van gonadotropinen bij luteale insufficiëntie.

3.3.3. Luteale insufficiëntie en de ovulatie.

3.3.4. Atresie en luteïnisatie.

3.3.5. Luteale insufficiëntie en graviditeit.

3.4. Beschouwing.

- 6.3.3. Classificatie van de laboratoriumwaarden.
- 6.4. Verschillen tussen de groepen in klinisch beeld en laboratorium waarden.
 - 6.4.1. Verschillen tussen de hoofdgroepen.
 - 6.4.2. Verschillen tussen de subgroepen bij secundaire amenorrhoe.
 - 6.4.3. Verschillen tussen de subgroepen A, B en C.
 - 6.4.4. Bijzondere kenmerken van de patiënten met adipositas en/of hirsutisme.
 - 6.4.5. Bijzondere kenmerken van patiënten met ondergewicht.
 - 6.4.6. Samenvatting van karakteristieken van patiënten met primair regulaire en primair irregulaire cyclus.
- 6.5. Resultaten van het aanvullend onderzoek.
 - 6.5.1. Resultaten van laparoscopie en histologisch onderzoek van de ovariumbipten.
 - 6.5.2. Enzym-histochemisch onderzoek van de ovariumbipten.
 - 6.5.3. Resultaten van de dexamethason suppressie/HCG stimulatietest.

VII

Klinische resultaten van de behandeling met clomipheen en enkele alternatieven.

- 7.1. Inleiding.
 - 7.1.1. De basale temperatuurcurve (BTC).
 - 7.1.2. Cervixslijm: rheologische eigenschappen en kristallisatiefenomeen.
 - 7.1.3. Endometriumbiopsie op de eerste dag van vaginaal bloedverlies.
 - 7.1.4. Excretie van LH in de urine.
 - 7.1.5. Excretie van pregnaandiol (en pregnaandiol).
 - 7.1.6. Anamnestiche gegevens.

- 7.1.7. Samenvatting.
- 7.2. De resultaten van de behandeling met clomipheen.
 - 7.2.1. Zwangerschappen.
 - 7.2.2. Additionele maatregelen bij de behandeling.
 - 7.2.2.1. Vermagering.
 - 7.2.2.2. Toediening van glucocorticoiden.
 - 7.2.2.3. Uiteindelijke resultaten van behandeling met clomipheen.
 - 7.2.3. Ovulatie zonder conceptie.
 - 7.2.4. Cervicale factoren als oorzaak voor het uitblijven van conceptie.
 - 7.2.5. Uitblijven van ovulatie.
- 7.3. Alternatieven bij falen van de clomipheen therapie.
 - 7.3.1. Wigexcisie uit de ovaria.
 - 7.3.2. Behandeling met gonadotropinen extracuten.
 - 7.3.3. Behandeling bij hyperprolactinaemie.
- 7.4. Bespreking van de uiteindelijke resultaten.
 - 7.4.1. Resultaten ten aanzien van normale zwangerschappen.
 - 7.4.2. Spontane abortus.
 - 7.4.3. Ovulatie zonder conceptie.
 - 7.4.4. Uitblijven van ovulatie.
- 7.5. Neveneffecten van clomipheen toediening.
- 7.6. De fertiliteitsprognose bij patiënten met anovulatie.

VIII

Het verloop van oestradiol, LH, FSH en de excretie van pregnaandiol en pregnaantriol in door clomipheen geïnduceerde cycli.

- 8.1. Inleiding.
- 8.2. Het verloop van de gemeten hormonen in

cycli van verschillende categorieën patiënten gevolgd door normale zwangerschap.

- 8.3. Commentaar bij de gevonden hormonale patronen.
- 8.3.1. De waarde van de indeling in categorieën op grond van de bij de oriëntatie gevonden LH niveaus.
- 8.3.2. Cycli met conceptie.
- 8.3.3. Conceptie bij spontane ovulatie.
- 8.3.4. Onvoldoende functie van het corpus luteum: korte luteale fase.
- 8.3.5. De lange luteale fase.
- 8.3.6. Ovulatoire cycli met normale duur van de luteale fase.
- 8.3.7. Het effect van verhoging van de clomipheen dosis. Hyperstimulatie.
- 8.3.8. Het verband tussen de gonadotropinen niveaus, de ovariële morfologie, het voorkomen van abortus en de regulariteit van de cyclus.
- 8.4. Samenvatting.

Samenvatting van het proefschrift.

Summary.

I

Inleiding en vraagstelling

In september 1968 werd in de Groninger Universiteitsvrouwenkliniek de ovulatie-inducerende stof clomipheen voor het eerst aan vrouwen met anovulatoire menstruatiestoornissen toegediend.

Gedurende de daarop volgende twee jaren werden er 69 patiënten mee behandeld, waarvan er 50 kinderwens hadden. Vierentwintig vrouwen werden zwanger; eenentwintig zwangerschappen eindigden met de geboorte van een levensvatbaar kind. Wij vroegen ons af, wat de oorzaak van het uitblijven van zwangerschap bij de overige vrouwen was en verrichtten een retrospectief onderzoek naar de resultaten van de clomipheen behandeling bij de vrouwen met kinderwens. De uitkomsten van dit onderzoek waren, sterk verkort, als volgt.

Zesentwintig vrouwen vertoonden een *secundaire amenorrhoe*. Hieronder werd verstaan het gedurende tenminste zes maanden uitblijven van vaginaal bloedverlies, zonder dat er van zwangerschap sprake is.

Zeven van deze patiënten concipiëerden bij een door clomipheen geïnduceerde ovulatie. Vier vrouwen werden niet zwanger in de periode waarin ze met clomipheen behandeld werden, maar wel spontaan binnen een half jaar na de laatste kuur. Al deze zwangerschappen eindigden met de geboorte van een levensvatbaar kind.

Vierentwintig vrouwen hadden een *oligomenorrhoe* met een interval van tenminste zes weken tussen de periodenwaar-

in vaginaal bloedverlies optrad.

Het niet optreden van ovulatie werd aannemelijk gemaakt door bestudering van de basale temperatuurcurve gedurende drie maanden en door histologisch onderzoek van het endometriumbiopt, dat bij het begin van vaginaal bloedverlies één of twee maal werd genomen.

Negen vrouwen met oligomenorrhoe werden zwanger bij een door clomipheen geïnduceerde ovulatie; vier andere spontaan binnen een half jaar na het staken van de therapie. Tien zwangerschappen eindigden met de geboorte van een levensvatbaar kind. Drie maal trad abortus op, steeds vóór de tiende zwangerschapsweek. Het in dit opzicht gevonden verschil met de secundaire amenorrhoe patiënten is mogelijk klinisch van belang, maar kan op toeval berusten (vierveldentest : $0.30 < 2\alpha < 0.20$).

Er is geen verschil tussen het aantal zwangerschappen dat ontstond bij patiënten met secundaire amenorrhoe en het aantal bij oligomenorrhoe patiënten. Er blijken echter tussen beide groepen verschillen te bestaan wat betreft het aantal patiënten dat met een ovulatie reageert, nadat clomipheen is toegediend.

Bij de *vijftien vrouwen* in de *secundaire amenorrhoe* groep die *niet zwanger* werden, waren er namelijk acht die niet één maal ovuleerden na behandeling met clomipheen. Bij drie anderen kon het uitblijven van zwangerschap worden verklaard doordat er afwijkingen van de tubae waren of doordat de partner verminderd vruchtbaar was. *In vier gevallen bleek het niet mogelijk om een verklaring te vinden voor het uitblijven van conceptie.* Volgens de gangbare criteria: bifasisch verloop van de basale temperatuurcurve, verdubbeling van de pregnaandiolexcretie in de periode dat de temperatuur hoog is ten opzichte van de waarde die vóór deze tijd wordt verkregen, omslag van de varentest in het cervixslijm en verkrijgen van endometrium menstruale bij biopsie op de eerste dag

van de vaginale bloeding waren zeven van de acht beoordeelbare cycli ovulatoir verlopen. Drie van vijf minder goed gedocumenteerde cycli vertoonden eveneens kenmerken van ovulatoir verloop.

De vier patiënten vertoonden een nagenoeg identiek klinisch beeld. Steeds hadden vanaf de menarche een meer of minder uitgesproken vorm van hirsutisme (een mannelijk patroon van de beharing zonder verdere tekenen van virilisatie) en adipositas in verschillende graden van ernst bestaan, voorts was de cyclus vanaf het begin irregulier.

Bij elf patiënten met oligomenorrhoe die niet zwanger werden kon in acht gevallen geen plausibele verklaring voor het uitblijven van conceptie worden gegeven. Deze patiënten kregen allen twee tot vier clomipheen kuren toegediend en hebben volgens de gebruikelijke criteria meermalen ovulatoir gereageerd. Slechts vijf maal volgde geen ovulatie na toediening van clomipheen. Zeven van deze patiënten vertoonden adipositas, vijf bovendien hirsutisme. Bij drie patiënten werd de verklaring voor het uitblijven van conceptie respectievelijk gevonden in niet reageren op therapie (twee maal) en ernstig gestoorde tubafunctie.

Vooraf bij patiënten met oligomenorrhoe, maar ook bij secundaire amenorrhoe is er dus een aantal vrouwen dat na toediening van clomipheen wel ovuleert, maar om onduidelijke redenen niet tot conceptie komt. Mede gezien het betrekkelijk uniforme klinische beeld (met vaak voorkomen van een goede oestrogene stimulatie, al dan niet in combinatie met adipositas en/of hirsutisme) dat de patiënten in beide groepen vertonen, rijst de vraag, of ondanks de bij hen geïnduceerde ovulatoire cycli toch daarin een ongunstige hormonale situatie bestaat, die het ontstaan van zwangerschap bemoeilijkt of zelfs onmogelijk

maakt.

In dit proefschrift zal worden geprobeerd om deze vraag te beantwoorden. Hiertoe werden de resultaten van clo-mipheen inducties die plaatsvonden tussen mei 1973 en mei 1975 nader bestudeerd.

II

Farmacologische eigenschappen en werkingsmechanisme van clomipheen

2.1 Inleiding

Clomipheen, 1[-p-(β diaethylaminoethoxy) phenyl]-1,2 diphenyl-2 chloroethyleen, is evenals diaethylstilboestrol een afgeleide van chlorotrianiseen (TACE) en werd in 1959 gesynthetiseerd door Allen, Feil en Palopoli. De stof wordt als een racemisch mengsel van het citraat toegepast. De beide isomeren hebben enigszins verschillende farmacologische eigenschappen: het trans-isomeer gedraagt zich als een zwak oestrogeen, het cis-isomeer lijkt anti-oestrogene eigenschappen te bezitten (52,64). Toediening van het racemisch mengsel in doses van 0,1 mg/kg tot 3 mg/kg per dag aan intacte vrouwelijke ratten blijkt dosis-afhankelijke vermindering van het uterusgewicht te veroorzaken en de fertiliteit te verminderen (21,60). Hoge doses (5 mg/kg per dag), toegediend aan gecastreerde ratten en andere knaagdieren (muizen, cavia's) (42,43,59) veroorzaken echter groei van de uterus, zodat de stof, afhankelijk van dosering en omstandigheden, zowel oestrogene (uterusgroei bevorderende) als anti-oestrogene (uterusgroei remmende) eigenschappen bezit.

Progestatieve, androgene of glucocorticoïde activiteiten werden niet gevonden (7,17,18) en de stof bleek niet in staat om de werking van gelijktijdig toegediende gonadotropinen tegen te gaan (21,50).

Voor de kliniek hebben de effecten op het regelsysteem voor de gonadotropinenafgifte, die samenhangen met bovengenoemde oestrogene en anti-oestrogene eigenschappen, de grootste betekenis.

2.2. De oestrogeen-receptor interactie en de anti-oestrogene effecten van clomipheen

2.2.1. De oestrogeen-receptor interactie.

Het primum movens in ieder endocrien systeem is de interactie van een hormoon met een voor dit hormoon gevoelige cel. In het geval van de steroidhormonen zijn deze cellen uitgerust met een intracellulaire receptor. Een dergelijk molecuul dient uitsluitend aanwezig te zijn in de targetcellen van het betreffende steroidhormoon en een grote affiniteit voor dit hormoon te hebben. Voor steroidhormonen met een andere biologische activiteit dient de affiniteit laag te zijn (26,28).

Het eerste receptor molecuul, waarvan de isolatie (door centrifugeren van een celextract van ratte-uteri in een sucrose-dichtheidsgradiënt) gelukte, was de oestradiol-receptor (67). Het bleek een eiwit met een molecuulgewicht van plm. 200.000, dat aan de bovengenoemde criteria voor een receptor voldeed. De dissociatie constante met oestradiol bleek 7×10^{-10} Mol te bedragen (68), wat wil zeggen dat de binding tussen dit steroid en het receptoreiwit uiterst specifiek en krachtig is.

Bij gefractioneerd centrifugeren bleek echter dat er twee receptoren aanwezig zijn, één in de cytosolfractie en één in de kernfractie van het ultracentrifugaat. Ter verklaring van de aanwezigheid van deze twee receptoren gingen Jensen en DeSombre (27) uit van een oestrogeen-receptor interactie die in twee stappen plaatsvindt. Na diffusie van het hormoon door de celmembraan vindt binding met de in het cytoplasma aanwezige receptor plaats. Het gevormde oestradiol-receptor complex wordt naar de

celkern getransporteerd, maar kan de kernmembraan alleen passeren wanneer de receptor een verandering heeft ondergaan (receptortransformatie). Het receptoreiwit wordt hierbij tot ongeveer de helft van zijn oorspronkelijke grootte gereduceerd en kan hierna inwerken op het kern DNA. De synthese van boodschapper RNA wordt gestimuleerd, waarna eiwitsynthese volgt. De eiwitsynthese door ribosomen in myometrium cellen wordt op deze wijze door oestradiol gestimuleerd (63).

Ook in de hypothalamus anterior en in de hypofyse bevinden zich targetcellen voor oestradiol, zoals b.v. door Kato en Vिलlee (33,36) in vitro en in vivo werd aangetoond. Dat ook in de hypofyse de synthese van RNA noodzakelijk is voor het effect van oestradiol op de eiwitsynthese blijkt uit het feit, dat het stimulerende effect van oestradiol op de LH afgifte van hypofyse incubaten door remmers van de eiwitsynthese (puromycine, cycloheximide) kan worden geblokkeerd (57).

2.2.2. De anti-oestrogene effecten van clomipheen.

Het is gebleken (20,40,72) dat in vivo en in vitro met name het cis-isomeer van clomipheen de binding van getritiëerd oestradiol aan de cytoplasma receptor dosis-afhankelijk kan remmen en verhinderen. Ook bleek (59) dat ^{14}C clomipheen in vivo een zeer sterke affiniteit voor alle oestrogeen-gevoelige organen heeft. Roy et al (51) vonden een verminderde retentie van getritiëerd oestradiol in de uterus na voorbehandeling met clomipheen. Eisenfeld en Axelrod (12) toonden op dezelfde wijze een zelfde effect in hypothalamus en hypofyse aan. Terenius (64) definiëert anti-oestrogene werking van een stof als een actief verminderen van de respons van vrouwelijke genitalia op gelijktijdig toegediend oestradiol, doordat de binding van oestradiol aan zijn specifieke bindingsplaats (= receptor) wordt verhinderd. Dit kan op verschillende manieren gebeuren, maar in het geval van

clomipheen is de vorming van een duurzaam anti-oestrogeen-receptor complex zonder biologische activiteit het meest waarschijnlijk (65). Door deze duurzame binding is de hoeveelheid cytoplasma receptor die beschikbaar is voor oestradiol verminderd (37). Opname in de cel en binding aan het receptor-eiwit vindt bij clomipheen langzamer plaats dan bij oestradiol (35); competitie met oestradiol gaat pas plaatsvinden bij een concentratie (op molaire basis) die tenminste een factor 10^3 groter is dan de oestradiolconcentratie (29,40). Het competitief effect van clomipheen met oestradiol is verschillend voor verschillende typen eindorganen (uterus, vagina, cervix). Men neemt aan, dat verschillen in biochemisch gedrag op cellulair niveau hiervoor verantwoordelijk zijn (32,45).

2.3. De regeling van de hypofysaire LH- en FSH afgifte en de beïnvloeding daarvan door clomipheen

2.3.1. Het effect van oestradiol op de LH- en FSH afgifte door de hypofyse.

De beantwoording van de vraag, welke invloed de aanwezigheid van clomipheen op de activiteit van hypothalamus en hypofyse heeft, zou moeten worden voorafgegaan door een beschrijving van het regulatiemechanisme van de normale cyclus.

Tot nu toe is het echter niet mogelijk gebleken een model te construeren waarmee alle fenomenen die daar een rol in spelen passend kunnen worden verklaard. Eigen gegevens over het verloop van de voornaamste hormonen in de normale cyclus worden samen met de hierover bestaande literatuur in hoofdstuk V beschreven.

Op grond van dit soort gegevens is het mogelijk om werkhypothesen over de verschillende regelmechanismen op te

stellen (4).

In het kader van het nader te bespreken onderzoek wordt nu aandacht besteed aan de hypothese van Yen et al (73) over de interactie van oestradiol met de hypofyse. Het bleek, dat wisselingen in de hypofysaire gevoeligheid en capaciteit belangrijke, zo niet de voornaamste, factoren zijn in de regeling van de cyclische gonadotropinensecretie. Onder gevoeligheid van de hypofyse verstaan de auteurs de verhouding tussen de hoeveelheid gesecerneerd hormoon (in dit geval LH/FSH) en de hoeveelheid stimulerend hormoon (LHRH); de capaciteit of functionele reserve is de hoeveelheid hormoon die door maximale en langdurige stimulatie kan worden afgegeven. Bij patiënten zonder functionerende gonaden is vooral de gevoeligheid, maar ook de capaciteit zeer groot. De afwezigheid van oestradiol leidt tot een "open" feedback systeem, waarin de onderdrukking van de LHRH afgifte door oestradiol ontbreekt, zodat deze afgifte vrijwel maximaal is: in het perifere bloed worden zowel voor LH als FSH zeer hoge waarden gevonden.

Tijdens de normale cyclus worden met Radio Immuno Assay's in de eerste vijf dagen van de follikelfase eveneens lage oestradiolspiegels (50 tot 100 pg/ml) in het plasma gevonden (echter niet zo laag als bij de hypogonadale patiënten). Toediening van 10 γ LHRH, 5 maal met 2 uur interval, in deze periode heeft echter slechts een geringe toename van de gonadotropinen afgifte ten gevolge, die nauwelijks stijgt na langdurige en krachtige stimulatie door infusie (gedurende vier uur) van 0,2 γ LHRH per minuut. Zowel de hypofysaire gevoeligheid als de capaciteit zijn in deze periode minimaal. De geringe reactie op LHRH staat in scherp contrast met de gonadotropinen afgifte na LHRH toediening bij hypogonadale vrouwen, die zeer groot is, maar door oestradiol kan worden geremd (75). Dit remmende effect van oestradiol (en daarmee voor een groot deel de besturing van het hypothalamo-hypofy-

saire regelmechanisme) werd ook door Keye en Jaffe (39) op de tweede cyclus dag van vrouwen met een regulaire cyclus gevonden en is niet zonder meer te begrijpen uit het basisprincipe van de oestradiol-targetcel interactie, dat immers op een stimulatie van de celactiviteit berust. Mogelijk spelen hierbij biogene aminen in de hypothalamus een rol. Zowel in vitro (56) als in vivo (57) is aangetoond, dat dopamine de afgifte van LHRH uit de hypothalamus stimuleert en dat oestradiol deze stimulatie kan remmen. Ook de indolaminen serotonine en melatonine blijken de afgifte van releasing hormone te kunnen tegen gaan (30,31), maar de betekenis van deze invloeden op de LHRH afgifte is op dit moment verre van duidelijk.

Bij onderzoek in vitro (54) bleken 0.00016 - 0.5 µg/ml stilboestrol in het incubatiemedium de toename van de afgifte van LH en FSH uit rattehypofyses door LHRH geheel te kunnen blokkeren, zodat het mogelijk is, dat alléén de hypofyse voor het remmende effect van oestradiol op de LH en FSH afgifte verantwoordelijk is.

Hoe het dan ook zij, bij stijgen van de plasma-oestradiol spiegels in de latere follikelfase (dagen 6 - 10) vindt slechts een geringe toename van de reactie op snel achter elkaar gegeven kleine doses LHRH plaats. Yen postuleert, dat in deze periode een zekere LH reserve in de hypofyse voorkwab wordt opgebouwd, die vooral tot uiting komt in een toegenomen capaciteit. De gevoeligheid van de hypofyse neemt niet toe.

Kort voor de ovulatie, in de periode van snel stijgende oestradiolspiegels, blijkt de capaciteit, maar nu ook de gevoeligheid weer snel toe te nemen. In deze periode wordt in de LH respons op LHRH pulsen een sterke toename gezien, die zou kunnen duiden op een (door oestradiol geïnduceerd) "selfpriming" effect van LHRH.

De drie factoren: grote hypofysaire gevoeligheid, grote capaciteit, en toegenomen LHRH afgifte (1) resulteren vermoedelijk in de paroxysmale afgifte van LH in de di-

rect prae-ovulatoire periode. Progesteron heeft een bevorderend effect op de LH (en FSH) afgifte in deze periode (41,43) en zelfs is het mogelijk dat voor het optreden van de ovulatie een prae-ovulatoire extra-stimulatie van de LH en FSH afgifte door progesteron noodzakelijk is (47).

De FSH afgifte wordt naar alle waarschijnlijkheid anders gereguleerd dan de LH afgifte; de respons op LHRH is waarschijnlijk minder groot en onder invloed van een stijgende oestradiolspiegel lijkt voornamelijk een remming van de afgifte op te treden (74). Voor de prae-ovulatoire FSH piek is tot nu toe geen goede verklaring te geven.

2.3.2. De invloed van clomipheen op de LH en FSH afgifte.

Voor het ingrijpen van clomipheen in het tegenkoppelmechanisme zijn op grond van bovenstaande overwegingen in ieder geval twee mogelijkheden aanwezig. De eerste is, dat het ingrijpt in de negatieve feedback in hypofyse en hypothalamus. Clomipheen vormt dan met de oestrogeen receptoren in deze gebieden een complex, dat niet in staat is negatieve feedback uit te oefenen. Als tweede mogelijkheid kan het ingrijpen in het positieve feedback mechanisme in de hypofyse. Omdat er op farmacologische gronden van wordt uitgegaan (zie 2.2.1.) dat het clomipheen-receptor complex betrekkelijk weinig effectief is, lijkt deze tweede mogelijkheid minder waarschijnlijk.

In het bovenbeschreven model van Yen et al leidt de toediening van clomipheen citraat tot een situatie die lijkt op de toestand bij de hypogonadale patiënt. De afwezigheid van een effectief oestradiol-receptor complex (de receptor is immers bezet met clomipheen (34)), leidt tot een soort open feedback systeem, waarbij de ontremde LHRH afgifte uit de hypothalamus en de grote hypofy-

saire capaciteit leiden tot een toegenomen afgifte van LH en FSH. Het aanwezige clomipheen heeft volgens deze opvatting geleid tot een vermindering van de negatieve feedback, waar ook het aangrijpingspunt van dit mechanisme moge zijn.

2.4. Het werkingsmechanisme van clomipheen als ovulatie-inducerende stof

2.4.1. Dierproeven ter verklaring van het werkingsmechanisme op hypothalamo-hypofysair niveau.

De eerste dierproeven over de afgifte van gonadotropinen na clomipheen toediening hadden althans gedeeltelijk ten doel, juist dit aangrijpingspunt te ontdekken. Igarashi et al (22) toonden bij de rat na implantatie van clomipheen in eminentia mediana, voorste hypothalamus, hersenschors en hypofyse voorkwab aan, dat vooral cis-clomipheen in staat is synthese en afgifte van LH te stimuleren, terwijl het resultaat van hun proeven erop duidde, dat het alleen de afgifte van FSH uit de hypofyse zou bevorderen. Dit onderzoek kon door zijn opzet geen antwoord geven op de vraag of deze effecten door de hypothalamus dan wel de hypofyse worden geïnitieerd. Baier en Taubert (2), Döcke en Dörner (10,11) en Schneider et al (55) kwamen tot de conclusie, dat stimulerende effecten van clomipheen voornamelijk tot stand komen door directe interactie van de stof met hypothalamus receptoren; Schally et al (53) vonden afhankelijk van dosis en isomeer verschillende effecten die aanleiding gaven tot het postuleren van een werking op hypofysair niveau. Daarbij zou de stimulatie van de hypofyse door releasing hormone worden vergemakkelijkt, of de afgifte van LH en FSH uit de hypofyse direct worden gestimuleerd.

Het is waarschijnlijk dat hypofyse of hypothalamus beiden door clomipheen worden beïnvloed. Het effect op de hypofyse lijkt daarbij het belangrijkste te zijn. Een argument hiervoor kan worden geput uit de onderzoeken van Maurer en Woolley (44) die 48 uur na castratie van volwassen vrouwelijke ratten bij gelijktijdige injectie van 50 mg/kg clomipheen en 1 µg/kg getritiëerd oestradiol en van getritiëerd oestradiol alléén, in de hypofyse van de met oestradiol en clomipheen geïnjecteerde dieren een relatief lagere oestradiol retentie vonden dan in de hypothalamus, wanneer zij vergeleken met de resultaten bij alleen met oestradiol behandelde dieren. De competitie van clomipheen met oestradiol in de hypofyse lijkt dus sterker te zijn dan in de hypothalamus.

2.4.2. In vitro onderzoeken en dierproeven ter verklaring van het werkingsmechanisme op ovariëel niveau.

In het begin van de zestiger jaren werd gewezen op een tweede mogelijkheid ter verklaring van het ovulatie-inducerende effect van clomipheen. De stof zou namelijk direct kunnen ingrijpen in de steroid synthese in het ovarium. Klinisch werd dit vermoed, toen bleek dat de oestrogeen uitscheiding in de urine tijdens clomipheentoe-diening steeg, zonder dat een verandering van de gonadotropinen excretie aantoonbaar was (6,49,61). Dit laatste kan overigens geweten worden aan de ongevoeligheid van de toen gebruikelijke bio-assays van LH en FSH.

In vitro onderzoeken toonden aan, dat clomipheen de snelheid waarmee testosteron en androsteendion in gehomogeniseerd placentaweefsel in oestron wordt omgezet, kan vergroten (62), doordat het de beschikbaarheid van TPNH (een nucleotide dat een cofactor is voor vele stappen in de steroidsynthese, die bepaalt hoeveel stof wordt omgezet) vergroot. Dit geschiedt door remming van het NADPH: cytochroom C oxydo-reductase systeem in de micro-

somen, dat TPNH afbreekt (19). Dit zelfde effect kan aangetoond worden in enzymsystemen van de schimmel *Penicillium lilacinum* (15).

In een bijzonder elegant experiment in vivo gelukte het Engel et al (13) versterkte omzetting van androsteendion in oestron en oestradiol aan te tonen door honde-ovaria met clomipheen te perfunderen.

Anderzijds toonde Hammerstein (20) een progressieve vermindering van ^{14}C acetaat incorporatie in door corpora lutea in vitro gesynthetiseerd progesteron bij toenemende concentraties clomipheen aan, zodat de progesteron-synthese in corpus luteum weefsel lijkt te worden geremd. Een bezwaar tegen deze experimenten is, dat de beschreven effecten pas bij zeer hoge clomipheen concentraties optreden.

Het is aannemelijk, dat ook de ovaria (en met name het follikel apparaat) zijn uitgerust met oestrogeen receptoren (15) en recent is opnieuw aangetoond (15,16), dat oestradiol nodig is om de groei van primordiaal follikels onder invloed van FSH mogelijk te maken. Dit fenomeen werd namelijk reeds in 1946 door de Jongh en Gaarenstroom en medewerkers (8,14) opgemerkt. De veronderstelling ligt dan ook voor de hand, dat de gebruikte hoge doseringen clomipheen in deze experimenten een oestrogeen effect hebben gehad. Het is aannemelijk dat het directe effect van clomipheen op de metabole activiteit van de ovaria, zo dit al in de klinisch gebruikte doseringen kan optreden, van veel minder betekenis is dan de toegenomen gonadotrope stimulatie die door de interactie van de stof met hypothalamus en hypofyse wordt veroorzaakt.

2.4.3. De invloed van clomipheen op de gonadotropinenafgifte en de ovariële steroidproductie bij de mens.

Bij de mens werd de beïnvloeding van de gonadotropinen-

afgifte door clomipheen in eerste instantie duidelijk aangetoond door Thompson en Mellinger (66) en Barr en Paulsen (3). Zij vonden een stijging van de door substitutie met 50 μ g ethinyloestradiol per dag tot normale waarden gesupprimeerde gonadotropinenspiegels bij resp. een patiënt met gonadale dysgenese en een geovariëctomeerde vrouw, wanneer gelijktijdig met het oestrogeen clomipheen werd toegediend. Oestrogene effecten van clomipheen in afwezigheid van endogeen oestrogeen konden niet worden aangetoond. De gebruikte doseringen van clomipheen werden niet vermeld.

Keller et al (38) vonden tijdens toediening van 100 mg clomipheen gedurende vier dagen aan vijf vrouwen met secundaire amenorrhoe een duidelijke stijging van de LH excretie; de toename van FSH in de urine bleek niet overtuigend. Beide gonadotropinen werden met bio-assays bepaald.

Met radio-immuno assays van LH (23) en FSH (24,25) in het serum toonden Jacobson et al een geleidelijke stijging van beide hormonen tijdens de clomipheenbehandeling aan. De toename van LH bleek groter te zijn dan die van FSH, en langduriger aan te houden. Nadat vijf dagen clomipheen was gegeven bereikte het serum-LH zijn maximale waarde op de zesde dag, het serum-FSH was maximaal op de vierde dag. De maximale LH waarde op de zesde dag wordt thans algemeen de "clomipheenpiek" genoemd. Na de "clomipheenpiek" treedt een daling van het serum-LH en -FSH op, waarna (bij geslaagde ovulatie-inductie) het gedrag van de gonadotropinen hetzelfde is als in de normale cyclus. Voor het slagen van de inductie is de aanvankelijke stijging van het serum-FSH naar hun overtuiging belangrijker dan die van het serum-LH.

Newton en Dixon (46) bepaalden behalve de gonadotropinen ook de oestrogeen excretie in de urine. Zij vonden daarbij dat stijging van deze excretie pas optrad na de "clomipheenpiek". Hun colorimetrische oestrogeen bepa-

ling is echter weinig gevoelig.

Vandenberg en Yen (70) vonden bij clomipheen toediening aan vrouwen met normale cycli een sterke stijging van het plasma-oestradiol, die al na de eerste therapiedag duidelijk werd, wanneer toediening vroeg (dag 1 - 5) in de follikelfase plaatsvond. Wanneer clomipheen later in de follikelfase werd toegediend (dag 5 - 10), was de stijging van het plasma-oestradiol veel minder duidelijk.

Toediening van een zelfde dosis clomipheen (100 mg dd.) in de late follikelfase (wanneer de oestradiolspiegels veel hoger zijn) resulteerde slechts bij één proefpersoon in een stijging van het plasma-oestradiol. De LH respons bij de proefpersonen die in de late follikelfase clomipheen kregen toegediend was kwantitatief groter dan bij de proefpersonen die in de vroege follikelfase werden geobserveerd; voor FSH was dit juist andersom.

De FSH stijging ondanks toename van het plasma-oestradiol is een verschijnsel dat duidelijk afwijkt van de gebeurtenissen in de normale cyclus en moet worden toegeschreven aan het gelijktijdig aanwezig clomipheen:

Vaitukaitis et al (69) toonden aan, dat de door toediening van 0.1 mg ethinyloestradiol onderdrukte FSH afgifte door gelijktijdige toediening van 200 mg clomipheen teniet kan worden gedaan en zelfs zowel wat de FSH als LH betreft kan worden gestimuleerd.

De vrij lange halfwaarde tijd in het bloed (vijf dagen), die mede wordt veroorzaakt doordat clomipheen wordt uitgescheiden in de gal en deel neemt aan de entero-hepatische recirculatie (58) zorgt voor een zekere accumulatie. Dientengevolge stijgt de plasmaspiegel van clomipheen bij gelijk blijvende dosering. Daardoor blijft gedurende langere tijd een voldoende hoge concentratie aanwezig om effectief met het stijgende oestradiol voor de receptoren te competieren. Hiermee kan verklaard worden waarom het effect op de FSH afgifte gedurende enkele dagen aanhoudt en niet teniet wordt gedaan zodra oestra-

diol stijging optreedt.

De sterke LH stijging die bij toediening van clomipheen in de late follikelfase wordt gevonden heeft waarschijnlijk te maken met de verhoogde gevoeligheid en capaciteit van de hypofyse in deze periode (41). Hoge doses clomipheen kunnen de versterkte LH respons van de hypofyse op LHRH toediening verhinderen (71).

2.4.4. De tijdsrelatie van het clomipheen effect met de ovariële activiteit.

De periode waarin clomipheen kan ingrijpen in de gonadotropinen huishouding wordt voornamelijk bepaald door de mate van stijging van het plasma-oestradiol die in deze periode optreedt. In het algemeen is deze periode kortdurend (9,69), met name wanneer de toename van het plasma-oestradiol zeer sterk is. Wil de ovulatie-inductie hierna slagen, dan is het noodzakelijk dat het hypothalamo-hypofysaire regelmechanisme een normale respons op de verbeterde oestrogene situatie vertoont. Daarom kan wanneer er een stoornis in de positieve feedback bestaat, en er dus onvoldoende toename van de hypofysaire LH afgifte is, niet verwacht worden dat een ovulatie op zal treden.

2.5. *Beschouwing*

Het blijkt niet mogelijk een waterdichte verklaring voor het werkingsmechanisme van clomipheen als ovulatie inducerende stof te geven, zolang het mechanisme van de cyclusregulatie niet is opgehelderd.

De stof competeert met oestradiol en andere endogene oestrogenen voor de specifieke bindingsplaatsen van alle oestrogeen-gevoelige cellen. Deze competitie vindt alleen

plaats wanneer de locale clomipheen concentratie een factor 1000 hoger is (zie 2.2.1.) dan die van de endogene oestrogenen. De anti-oestrogene werking bestaat daaruit, dat het clomipheen-receptor complex de celkern minder goed activeert dan het oestradiol-receptor complex.

In de anatomische gebieden die verantwoordelijk zijn voor het optreden van negatieve feedback op de gonadotropinenafgifte kan deze negatieve feedback worden verminderd, waardoor een ontremming van de gonadotropinenafgifte ontstaat die als stimulatie imponeert.

In theorie is voor de interactie van clomipheen met de oestradiol receptor de aanwezigheid van endogeen oestrogeen niet vereist.

De invloed van clomipheen op de gonadotropinen duurt in aanwezigheid van oestradiol kort. Elke adequate oestradiol stijging kan het effect, vooral wat de FSH afgifte betreft, snel teniet doen.

Een ovulatie na clomipheen behandeling kan alleen worden verwacht in een situatie waarin een actieve hypothalamo-hypofysaire as het ovarium zo ver gestimuleerd heeft, dat de door de behandeling veroorzaakte gonadotropinen stijging in staat is de evenwichtstoestand, die in amenorrhoe of oligomenorrhoe tot uiting komt, te doorbreken.

Literatuur

1. Arimura A., Kastin A.J., Schally A.V., J.Clin.Endocrinol.Metab. 38:510, 1974.
2. Baier H., Taubert H.D., Endocrinology 84:946, 1969.
3. Barr A., Paulsen C.A., Clin.Res. 13:129, 1965.
4. Bogdanove E., Acta Endocrinol.Suppl. 199:35, 1975.
5. Carlström K., Furuhjelm M., Acta Obstet.Gynaecol. Scand. 48, suppl. 3, 35, 1969.
6. Charles D., Barr W., Bell E.J., Loraine J.A., Am.J. Obstet.Gynecol. 86:913, 1963.
7. Cushman P., Hilton J.G., Am.J.Obstet.Gynecol. 97: 958, 1967.
8. Croes-Buth S., Paesi F.J.A., de Jongh S.E., Acta Endocrinol. 32:399, 1949.
9. Czygan P.J., Schulz K.D., Gynecol.Invest. 3:126, 1972.
10. Döcke F., J.Reprod.Fertil. 24:45, 1971.
11. Döcke F., Dörner G., Zbl.Gynäkol. 28:940, 1971.
12. Eisenfeld A.J., Axelrod J., Bioch.Pharmacol. 16:1781, 1967.
13. Engel J.A., Friedländer R.L., Eik-Nes K., Metabolism 17:189, 1968.
14. Gaarenstroom J.H., de Jong S.E., A Contribution to the Knowledge of the Influences of Gonadotropic and Sex Hormones on the Gonads of Rats.In: Monographs on the Progress of Research in Holland during the War. Elsevier Publ. Company, Amsterdam, 1946, pp. 73-82.
15. Goldenberg R.L., Vaitukaitis J.L., Ross G.T., Endocrinology 90:1492, 1972.
16. Goldenberg R.L., Reiter E.O., Ross G.T., Fertil.Steril. 24:121, 1973.
17. Greenblatt R.B., Fertil.Steril. 12:402, 1961.
18. Greenblatt R.B., Barfield W.E., Junck E.C., Ray A.W., JAMA 178:101, 1961.

19. Hagerman D.D., Smith O.W., Day C.F., *Acta Endocrinol.* 51:599, 1966.
20. Hammerstein J., *Acta Endocrinol.* 60:635, 1969.
21. Holtkamp D.E., Greslin J.G., Root C.A., Lerner L.J., *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 105:197, 1960.
22. Igarashi M., Ibuki Y., Kubo H., Kamioka J., Yokota N., Ebara Y., Matsumoto S., *Am.J.Obstet.Gynecol.* 97:20, 1967.
23. Jacobson A., Marshall J.R., Ross G.T., *Am.J.Obstet. Gynecol.* 101:1025, 1968.
24. Jacobson A., Marshall J.R., Ross G.T., Cargille C.M., *Lancet* I:1371, 1968.
25. Jacobson A., Marshall J.R., Ross G.T., Cargille C.M., *Am.J.Obstet.Gynecol.* 102:284, 1968.
26. Jensen E.V., Jacobson H.I., Flesher J.W., Saka N.N., Gupta G.N., Smith S., Calucci V., Shiplacoff D., Neumann H.F., DeSombre E.R., Jungblut P.W. In: *Steroid dynamics* (Pincus G., Nakao T., Tait J.R. eds.) Academic Press 117/1966.
27. Jensen E.V., DeSombre E.R., *Science* 182:126, 1973.
28. Jensen E.V., Suzuki T., Kawashima T., Stumpf W.E., Jungblut P.W., DeSombre E.R., *Biochemistry* 59:632, 1968.
29. Kahwanago I., Heinrichs W.L., Herrmann W.L., *J.Jap. Obstet.Gynecol.Soc.* 23:785, 1971.
30. Kamberi I.A., Mical R.S., Porter J.C., *Endocrinology* 88:1288, 1970.
31. Kamberi I.A., Mical R.S., Porter J.C., *Endocrinology* 89:1042, 1971.
32. Karkun J.N., Mehrotra P.K., *Ind.J.Exp.Biol.* 11:7, 1973.
33. Kato J., Villee C.A., *Endocrinology* 80:567, 1967.
34. Kato J., Kobayaski T., Villee C.A., *Endocrinology* 82:1049, 1968.
35. Kato J., *Acta Obstet.Gynecol.Jap.* 18:29, 1971.
36. Kato J., *Acta Endocrinol.* 63:577, 1970.

37. Katzenellenbogen B.S., Ferguson E.R., *Endocrinology* 97:1, 1975.
38. Keller P.J., Naville A.M., Wyss H.I., *Fertil.Steril.* 19:892, 1968.
39. Keye W.R., Jaffe R.B., *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 38:805, 1974.
40. Korenman S.G., *Clin.Res.* 17:144, 1969.
41. Lasley B.L., Wang C.F., Yen S.S.C., *J.Clin.Endocrin. Metab.* 41:820, 1975.
42. Maass H., Bettendorf G., Schulz K.D., *Arch.Gynäkol.* 202:228, 1964.
43. Mann D.R., Barraclough C.A., *Endocrinology* 93:694, 1973.
44. Maurer R., Woolley D., *Endocrinology* 88:1281, 1971.
45. Michel G., Jung I., Baulieu E.E., Aussel C., Uriel J., *Steroids* 24:437, 1974.
46. Newton J.M., Dixon P., *J.Obstet.Gynaecol.Brit.Cwlth.* 78:812, 1971.
47. Odell W.D., Swerdlow R.S., *Proc.Nat.Acad.Sci. U.S.* 61:529, 1968.
48. Piascek B.E., Meites J., *Endocrinology* 79:432, 1966.
49. Pildes R.B., *Am.J.Obstet.Gynecol.* 91:466, 1965.
50. Roy S., Greenblatt R.B., Mahesh V.B., *Acta Endocrinol.* 47:657, 1964.
51. Roy S., Mahesh V.B., Greenblatt R.B., *Acta Endocrinol.* 47:669, 1964.
52. Sankaran M.S., Prasad M.R.V., *Steroids* 18:511, 1971.
53. Schally A.V., Carter W.H., Parlow A.F., Saito M., Arimura A., Bowers C.Y., Holtkamp D.E., *Am.J.Obstet. Gynecol.* 107:1156, 1970.
54. Schally A.V., Redding T.W., Arimura A., *Endocrinology* 93:893, 1973.
55. Schneider H.P.G., Staemmler H.J., Straehler-Pohl K., Sachs L., *Acta Endocrinol.* 58:347, 1968.
56. Schneider H.P.G., McCann S.M., *Endocrinology* 85:121, 1969.

57. Schneider H.P.G., McCann S.M., *Endocrinology* 87:330, 1970.
58. Schreiber E., Johnson J.E., Plotz E.J., Wiener M., *Clin.Res.* 14:287, 1966.
59. Schultz K.D., Hölzel F., Bettendorf G., *Acta Endocrinol.* 68:605, 1971.
60. Segal S.T., Nelson W.O., *Anat.Rec.* 139:273, 1961.
61. Smith O.W., Smith G.V., Kistner R.W., *JAMA* 184:878, 1963.
62. Smith O.W., Day C.F., *Acta Endocrinol.* 44:519, 1963.
63. Suvatte A.B., Hagerman D.D., *Endocrinology* 87:64, 1970.
64. Terenius L., *Acta Endocrinol.* 64:47, 1970.
65. Terenius L., *Acta Endocrinol.* 66:431, 1971.
66. Thompson R.J., Mellinger R.C., *Am.J.Obstet.Gynecol.* 92:412, 1965.
67. Toft D., Gorski J., *Proc.Nat.Acad.Sci.USA* 55:1574, 1966.
68. Toft D., Shyamala G., Gorski J., *Proc.Nat.Acad.Sci. USA* 57:1740, 1967.
69. Vaitukaitis J.L., Bermudez J.A., Cargille C.M., Lipsett M.B., Ross G.T., *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 32:503, 1971.
70. Vandenberg G., Yen S.S.C., *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 37:356, 1973.
71. Wang C.F., Yen S.S.C., *J.Clin.Invest.* 55:201, 1974.
72. Wyss R.H., Karsznia R., Heinrichs W.L., Herrmann W.L., *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 28:1824, 1968.
73. Yen S.S.C., Lasley B.L., Wang C.F., Leblanc H., Siler T.M., *Rec.Progr.Horm.Res.* 31:321, 1975.
74. Yen S.S.C., Tsai C.C., *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 33:882, 1971.
75. Yen S.S.C., Vandenberg G., Tsai C.C., Siko T.M. In: *Biorhythms and Human Reproduction*". (Ferin M. et al eds.), Wiley & Sons Inc., New York, 1973, p. 219.

III

Bespreking van de literatuur over de klinische toepassing van clomipheen

3.1. Resultaten en bijwerkingen; de conceptieverwachting na clomipheenbehandeling

3.1.1. Patiëntenselectie; doseringsschema's.

De eerste resultaten van behandeling van patiënten met clomipheen, die vanaf 1961 werden gepubliceerd, wezen op een sensationele doorbraak in de behandeling van anovulatoire menstruatiestoornissen en daardoor veroorzaakte infertiliteit (13,33,34,70,84,87,113). In al deze publicaties resulteerden ongeveer 70% van de gegeven kuren in een ovulatie. Al vrij snel (13,56,84,87,99,117) waren de criteria gevonden, waaraan de patiënten dienden te voldoen om gunstig op de therapie te kunnen reageren. Ook in de kliniek bleken een intacte hypofyse en normale ovaria een voorwaarde voor succesvolle behandeling te zijn. Kistner (54) meende, dat de meest geschikte candidate een goede oestrogene situatie moet bezitten, die tot uiting komt in het vertonen van een onttrekkingsbloeding na progesteronbelasting. De excretie van 17-ketosteroiden dient normaal of slechts licht verhoogd te zijn, die van gonadotropinen normaal of slechts licht verlaagd. Ook de schildklier-, lever- en nierfunctie dienen normaal te zijn. Patiënten met het syndroom van Stein-Leventhal zouden naar zijn mening ideale kandidaten zijn voor clomipheen therapie (56).

Bell en Loraine (5) vonden na clomipheen toediening bij hoge oestrogeenspiegels een ovulatie, stimulatie van de oestrogeen excretie bij matige oestrogene situatie en uitblijven van reactie wanneer de oestrogenen laag waren. De aanvankelijk gebruikte doseringsschema's lagen ver uiteen. In het begin werd, soms in zeer hoge doseringen, doorgegaan met de medicatie totdat peri-ovulatoire waarden voor de excretie van oestrogenen in de urine werden gevonden (13,34,55,70). Hierbij bleek gemakkelijk een te sterke stimulatie van de ovaria te kunnen ontstaan (71, 100), terwijl het aantal zwangerschappen klein was (24, 89). Behalve hyperstimulatie traden ook andere bijverschijnselen vaak op.

De beste resultaten, zowel wat betreft het aantal ovulatoire reacties als de frequentie van ongewenste bijwerkingen, bleken te worden verkregen met een dosering van 50 à 100 mg, d.w.z. ongeveer 1.25 mg/kg lichaamsgewicht, gedurende 5 à 7 dagen, te beginnen op de vijfde dag na spontaan of opgewekt vaginaal bloedverlies (13,54,56,70, 81,87,117,118). Het opwekken van een onttrekkingsbloeding is nuttig om hyperplastisch endometrium op te ruimen. De bloeding is tevens een aanwijzing, dat er kort voor de kuur begon voldoende oestrogenen aanwezig waren om het endometrium op te bouwen.

3.1.2. Klinische resultaten bij verschillende ziektebeelden; bijwerkingen.

De researchafdeling van de fabrikant heeft een verzamelstatistiek van de klinische resultaten openbaar gemaakt (65), waarbij de periode van juni 1965 tot juni 1967 werd besproken.

2196 Zwangerschappen traden op, waarvan 407 niet in de geboorte van een levensvatbaar kind eindigden. Het tijdstip waarop de zwangerschap eindigde, noch het aantal congenitale afwijkingen in deze groep is vermeld. 1201 Graviditeiten eindigden in de geboorte van één levens-

vatbaar kind, 136 in de geboorte van een meerling. Het resultaat van de overige zwangerschappen was op dat moment nog niet bekend en is later niet gepubliceerd. Achtendertig van de levensvatbare kinderen, d.i. 3,3‰, vertoonden congenitale afwijkingen. Hierin kon echter geen duidelijk patroon worden herkend en het percentage wijkt niet belangrijk af van dat van de normale populatie. Na 31% van de clomipheen kuren trad zwangerschap op, het percentage ovulaties was 70%.

Patiënten met polycysteuze ovaria, post pil amenorrhoe en oligomenorrhoe met een interval tussen de menses kleiner dan zes maanden bleken het best te reageren. Ovulatie was aannemelijk in respectievelijk 76.2, 78.1 en 80.7% van de clomipheen kuren; zwangerschap trad op bij respectievelijk 32, 36 en 35% van de patiënten, gerekend tot zes maanden na de laatste clomipheen kuur. Bij extreme oligomenorrhoe (interval tussen de menses langer dan zes maanden) bleek slechts 53% van de behandelingen tot ovulatie te leiden, met 20% zwangerschappen. Er bleek geen verschil te bestaan tussen de resultaten van behandeling met 50 mg clomipheen gedurende vijf dagen en 100 mg in dezelfde tijd.

Bij de hogere dosering bleek er geen duidelijke toename van het aantal zwangerschappen, maar wel een lichte vermeerdering van het aantal bijwerkingen op te treden. De voornaamste hiervan zijn:

vergroting van de ovaria	13.9%
opstijgingen	10.7%
buikpijn (vnl. peri-ovulatoir)	7.4%
misselijkheid	2.1%
mastalgie	2.1%
visusklachten	1.6%

Helaas moet getwijfeld worden aan de juistheid van de opgegeven resultaten, want beoordeling van de gegevens omtrent de effectiviteit van clomipheen in de afzonderlijke publicaties blijkt bijzonder moeilijk te zijn.

Tabel III-1. Resultaten van behandeling met clomipheen bij vijf auteurs die duidelijk onderscheid maakten tussen patiënten met oligomenorrhoe en met secundaire amenorrhoe.

auteurs	oligomenorrhoe					sec. amenorrhoe				
	aantal patiënten	aantal clomipheen kuren	aantal patiënten met ovulatie	aantal ovulatoire reacties	zwangerschappen	aantal patiënten	aantal clomipheen kuren	aantal patiënten met ovulatie	aantal ovulatoire reacties	zwangerschappen
Pildes (81)	10	35	6	12	1	-	-	-	-	-
Fukunishi (29)	28	50	24	39	4	35	56	25	30	2
Wildschut (120)	4	12	3	3	1	14	41	10	23	5
Sirbu (96)	17	24	13	15	2	3	4	2	3	1
Kistner (56)	8	35	8	35	6	33	147	29	86	7
	67	156	54	104	14	85	248	66	142	15

Hiervoor is een aantal redenen op te geven. In de eerste plaats zijn de criteria voor de selectie van patiënten niet nauwkeurig omschreven (19,38). Niet duidelijk is of alle vrouwen kinderwens hadden, terwijl meestal een overall percentage ovulaties en zwangerschappen wordt genoemd, vaak zelfs zonder dat wordt vermeld in hoeveel kuren deze resultaten werden bereikt. Tenslotte wordt slechts een enkele maal vermeld in welke categorieën (b.v. vrouwen met oligomenorrhoe, anovulatoire cycli, secundaire amenorrhoe) de zwangerschappen zijn opgetreden, terwijl de criteria op grond waarvan het opgetreden van ovulatie wordt aangenomen niet uniform zijn. Bij slechts vijf auteurs (29,56,81,96,120) kon worden nagegaan hoe groot de ovulatie- en zwangerschapspercentages in de groepen secundaire amenorrhoe en oligomenorrhoe waren (tabel III-1).

Samenvattend blijkt uit deze publicaties dat van 67 patiënten met anovulatie en oligomenorrhoe, er 54 met 104 ovulaties in 156 clomipheen kuren reageerden; 14 maal trad conceptie op, d.w.z. in 13.4% van de ovulatoire kuren en 17.7% van de patiënten.

In de eerste groep was 66% van de clomipheencycli waarschijnlijk ovulatoir, in de tweede, die met secundaire amenorrhoe, 57%. Er is dus, wat betreft de zwangerschappen na clomipheen therapie, geen verschil tussen de groep patiënten met oligomenorrhoe en de secundaire amenorrhoe-groep. Wel valt op, dat slechts in 13.4 resp. 10.5% van de ovulatoire cycli conceptie plaatsvond en dat bij patiënten met oligomenorrhoe méér clomipheen behandelingen door ovulatie werden gevolgd dan bij patiënten met secundaire amenorrhoe.

Er bestaat een duidelijke discrepantie tussen ovulation rate en pregnancy rate. Het is echter zeer wel mogelijk dat één en ander wordt verklaard doordat door sommige van de geciteerde auteurs weinig stringente criteria voor al dan niet ovulatoir verlopen van de cycli zijn aangelegd.

3.1.3. De conceptieverwachting in de "normale" populatie.

Het is nuttig om nu na te gaan, in hoeverre er verschil bestaat tussen de conceptieverwachting in de "normale" populatie en de patiëntengroepen die met clomipheen behandeld werden.

Over de normale verwachting van conceptie zijn maar weinig studies bekend. Guttmacher (37) berekende op basis van een aantal daarvan een conceptie percentage van 57% na drie maanden huwelijk, 72% na een half jaar en 85% na een jaar. Weir en Weir (114) vonden bij bijna 1500 echtparen, dat pas na $2\frac{1}{2}$ jaar 80% van de vrouwen had geconcipteerd, terwijl 50.5% van de vrouwen binnen zes maanden in verwachting was.

In Nederland werden in 1964 (dus vóór de algemene invoering van de hormonale anticonceptie) 102.900 huwelijken gesloten en in het jaar daarna werden 84.484 echtelijke eerste kinderen geboren (16); een ruwe schatting levert een conceptie percentage van 82% op, een getal dat de gegevens van Guttmacher redelijk benadert.

Deze schatting is geoorloofd omdat bekend is, dat in 1964 plm. 17.5% van de gesloten huwelijken "gedwongen" waren en in 1965 17.1%, een ongeveer gelijk aantal (57).

3.1.4. Vergelijking met de conceptieverwachting bij clomipheen behandeling.

Bij de in tabel III-1 geciteerde auteurs hadden 120 vrouwen gemiddeld twee ovulatoire cycli, die gelijk kunnen worden gesteld aan twee maanden in de normale populatie. 29 Vrouwen werden zwanger, d.i. 23%.

Volgens Guttmacher moet na twee maanden 40% en volgens Weir en Weir 25% van de normale populatie in verwachting zijn.

Hancock en Oakey (40) en Lamb et al (58) komen, doordat zij een normale conceptieverwachting van plm. 30% in drie

maanden aanhouden, tot de conclusie, dat er geen discrepantie is tussen aantal ovulaties en concepties bij met clomipheen behandelde vrouwen.

Gezien de geschatte normale conceptieverwachting voor Nederland, die goed overeenkomt met Guttmacher's cijfers, is het waarschijnlijk dat bij met clomipheen behandelde patiënten wèl minder zwangerschappen per ovulatie optreden dan in de normale bevolking.

Het is echter duidelijk, dat deze lagere conceptieverwachting wordt veroorzaakt, doordat een aantal patiënten niet concipiëert na behandeling met clomipheen.

In alle geraadpleegde publicaties concipiëerde het grootste deel van de succesvol behandelde vrouwen in de eerste, tweede of derde behandelingscyclus.

3.1.5. Hypothesen ter verklaring van het geringe aantal na clomipheen behandeling ontstane zwangerschappen.

Whitelaw et al (117) waren nog van mening, dat uitblijven van conceptie na geslaagde ovulatie-inductie door "andere factoren dan anovulatie" werd veroorzaakt; later (118) gingen de auteurs hier nader op in. Onder andere werden argumenten voor de volgende mogelijkheden aangevoerd: 1. slecht cervixslijm; 2. te korte clomipheenkuren, waardoor te weinig follikelstimulatie zou optreden; 3. versneld transport van het ovum in de tuba; 4. de mogelijkheid van "intracorticale ovulatie", waarbij het ovum de follikel niet verlaat. Tenslotte bestaat de mogelijkheid, dat een conceptie niet wordt opgemerkt doordat een zeer vroege abortus optreedt.

Eén en ander kan worden samengevat als een verstoring van de fysiologische processen, die tot ovulatie, conceptie en zwangerschap leiden. Aangezien al deze veranderingen hormoon-afhankelijk zijn, ligt het voor de hand te veronderstellen, dat hormonale stoornissen het primum movens zijn. Wanneer inderdaad deze cycli zonder conceptie ovu-

latoir waren, dan is het redelijk om te veronderstellen dat de functie van de rijpende follikel en het ontstane corpus luteum onvoldoende is geweest.

3.2. Hormoon-afhankelijke factoren in de follikelfase die tot uitblijven van conceptie kunnen leiden

3.2.1. Stoornissen in de prae-ovulatoire periode; slecht cervixslijm.

Het ontbreken van de juiste fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm in de prae- en peri-ovulatoire periode, waardoor de penetratie van spermatozoën wordt bemoeilijkt, werd aanvankelijk door Whitelaw, Kalman en Grams (118) naar voren gebracht als verklaring voor de discrepantie tussen het aantal ovulaties en het aantal zwangerschappen na clomipheen behandeling.

3.2.2. Behandeling van slecht cervixslijm ("cervical hostility") met oestrogenen.

In de klinische praktijk wordt aangenomen dat onvoldoende fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm bij spontaan ovulerende vrouwen in de prae-ovulatoire periode veroorzaakt worden door een te geringe oestrogene stimulatie en worden ter verbetering oestrogenen toegediend.

Ook ten gevolge van cervicitis en van vermeende verminderde gevoeligheid van de cervix voor oestrogenen kan de kwaliteit van het cervixslijm onvoldoende zijn. Sharf, Graf en Kuzminsky (97,98) vonden een vrij grote groep vrouwen, bij wie tijdens de clomipheen toediening de kwaliteit van het cervixslijm sterk achteruit ging. Een dag na het begin van de clomipheen therapie gaven zij tevens 3-cyclopentylether van ethinyloestradiol, quinestrol, in een dosis van 50 µg dd. gedurende tien dagen. Seki et al

(91) behandelden acht vrouwen met slecht cervixslijm na clomipheen toediening met dezelfde combinatie-therapie. In de clomipheen-quinestrol groep werd echter de clomipheen dosis tot 150 mg per dag verhoogd. Verschillen in het verloop van de LH en FSH serumwaarden werden niet waargenomen; de ontwikkeling van de secretiefase van het endometrium (zie 3.3.3.) bleek in de cycli met gecombineerde therapie minder snel te verlopen ten opzichte van de bevinding bij behandeling met clomipheen alléén. De kwaliteit van het cervixslijm in de peri-ovulatoire periode verschilde niet in de twee groepen; wél werden in de clomipheen-quinestrol groep meer "positieve" Hühner-tests waargenomen, dat wil zeggen dat in een groter aantal gevallen enkele uren post coïtum spermatozoën in het cervixslijm werden gevonden. De auteurs verwonderden zich erover, dat slechts twee van de acht vrouwen zwanger werden na clomipheen-quinestrol behandeling.

Het is aannemelijk dat de door hun zelf gevonden vertraagde endometriumrijping hier verantwoordelijk voor is. In een redactioneel commentaar (27) op dit artikel wordt gesteld, dat gelijktijdige toediening van clomipheen en quinestrol neerkomt op een vermindering van de effectieve clomipheen dosis, met minder goede follikelstimulatie als gevolg.

Bij normale ovulaties na clomipheen behandeling wordt vrijwel steeds goed cervixslijm in de prae-ovulatoire periode gevonden (15,27,94,119).

Geleidelijke verslechtering van de peri-ovulatoire kwaliteiten van het cervixslijm tijdens opeen volgende behandelingen met clomipheen alléén is in de literatuur niet beschreven.

3.2.3. Argumenten ter verklaring van het geringe resultaat van oestrogeenbehandeling.

Het is, zoals in 3.2.2. al ter sprake kwam, nauwelijks denkbaar, dat gecombineerde of sequentiële clomipheen-

oestrogeen therapie een gunstig effect op de follikelrijping heeft. De verklaring hiervan moet gezocht worden in het effect dat de stijgende oestradiol spiegels in de follikelfase op de afgifte van LH (en FSH) uit de hypofyse hebben.

Bij immature ratten werd al in 1934 door Hohlweg (42) aangetoond dat één enkele injectie met oestrogeen hormoon corpora lutea in de ovaria kon doen ontstaan. Dit positieve feedback effect van oestrogenen, dat sedertdien als het "Hohlweg effect" bekend staat, was ook bij vrouwen aangetoond (52). Pas sinds enkele jaren is enige inzicht verkregen over de wijze, waarop oestrogeen dit effect veroorzaakt. De door Yen et al hierover opgestelde hypothese werd in het vorige hoofdstuk reeds behandeld, maar hierbij kwam alleen de rol van het endogene oestradiol ter sprake. Van de Wiele et al (110), Nillius en Wide (72) en Czygan en Reich (20) dienden verschillende doses synthetisch oestrogeen toe aan vrouwen met ovulatiestoornissen. Steeds werd 24 tot 72 uur na de intraveneuze toediening een duidelijke piek in de LH afgifte waargenomen, die door een relatieve daling van de LH spiegels was voorafgegaan. De afgifte van FSH lijkt door de oestrogeen toediening alleen te worden onderdrukt. Toediening van ethinyloestradiol (0.1 of 0.2 mg) in de vroege follikelfase bij vrouwen met een regulaire cyclus (uiterlijk dag 7 - 9) resulteerde steeds in onderdrukking van LH en FSH, zonder dat na het staken van de toediening een rebound effect optrad (9,23,107, 111,122). Keye en Jaffe maakten aannemelijk dat het remmende effect van oestrogenen in deze fase van de cyclus direct op de hypofyse wordt uitgeoefend (53), zoals ook in 2.3.1. ter sprake kwam. Later in de follikelfase toegediend (dag 9 - 18) bleek 0.1 mg ethinyloestradiol dd. gedurende de hele toedieningsperiode een stijging van de LH spiegels te veroorzaken, terwijl direct na het begin en na het staken van de toediening ook het serum-FSH een

stijging vertoonde. Tijdens de behandelingsperiode was het serum-FSH onderdrukt (9). Dit sterk afwijkende verloop van de gonadotropinen veroorzaakte waarschijnlijk, dat zes van de zeven op deze wijze behandelde vrouwen niet ovuleerden. De FSH onderdrukking, die onafhankelijk van het moment waarop de oestrogeen therapie begon optrad, vormt een mogelijke verklaring voor het ontstaan van onvoldoende corpus luteum activiteit na toediening van ethinyloestradiol in de follikelfase van normaal cyclische vrouwen (111). Ook de cyclusverlenging die door enkele auteurs (1,111) gevonden werd na vroege toediening van geconjugueerd oestrogeen kan erdoor worden verklaard.

Toediening van oestrogenen aan vrouwen bij wie spontaan follikelrijping aan de gang is blijkt dus een negatief effect te hebben, zowel op de follikelstimulatie als op de steroidproductie later in de cyclus. Het valt in het algemeen niet te verwachten dat dit bij follikelgroei na clomipheen stimulatie anders zal liggen.

Op grond van het gestelde in 3.2.2. en 3.2.3. lijkt onvoldoende oestrogeenproductie in de follikelfase de meest voor de hand liggende oorzaak voor slechte kwaliteit van het peri-ovulatoire cervixslijm. Toediening van oestrogeen zal in de meeste gevallen resulteren in een sterk van de normale situatie afwijkende gonadotropinenstimulatie. Een verbetering van de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm zal dus worden bereikt ten koste van de follikelrijping. In uitzonderlijke gevallen, met name wanneer er een bijna rijpe follikel bestaat, kan toediening van oestrogeen een ovulatie bewerkstelligen door de te verwachten LH-piek 24 - 72 uur na het begin van de therapie.

3.3. Hormoon-afhankelijke factoren in de luteale fase die tot uitblijven van conceptie kunnen leiden

3.3.1. Luteale insufficiëntie.

Wanneer ondanks een regelmatige, spontane of geïnduceerde, ovulatie zwangerschap lange tijd uitblijft, de in de luteale fase verkregen endocriene gegevens afwijken van het normale beeld en er overigens geen factoren die de fertiliteit negatief beïnvloeden aanwezig zijn, ligt het voor de hand aan te nemen, dat het corpus luteum onvoldoende functioneert (43). Dit verschijnsel staat in de literatuur bekend als luteale insufficiëntie en wordt gekenmerkt door een tekortschieten van de steroidproductie in het corpus luteum.

Diagnose met behulp van endometriumhistologie.

De diagnose komt vast te staan, wanneer men aan kan tonen, dat na een ovulatie de steroidproductie in de luteale fase kleiner is dan normaal.

Daarvoor zijn idealiter dagelijkse bepalingen van de ovariële hormonen of hun metabolieten en inspectie van de ovaria op de aanwezigheid van een corpus luteum noodzakelijk: een ongehoorde belasting van patiënt en laboratorium!

Bij ontbreken van voldoende faciliteiten kan onderzoek van de ontwikkeling van het endometrium in de luteale fase een indruk over de activiteit van het corpus luteum geven.

Rock en Bartlett (85) maakten als eersten melding van de mogelijkheid dat gestoorde fertiliteit kan worden veroorzaakt door onvoldoende secretie van het endometrium in de luteale fase.

Noyes, Hertig en Rock (74) beschreven aan de hand van

acht criteria de van dag tot dag veranderende normale morfologie van het endometrium in de secretiefase, waardoor een soort datering van het endometrium mogelijk werd.

Luteale insufficiëntie wordt aangenomen, wanneer het endometrium meer dan twee dagen bij de normale ontwikkeling achterblijft. In een grote serie vrouwen met fertiliteitsstoornissen (31) werd op deze wijze bij 10.7% een dergelijk achterblijven gevonden. Bij normaal fertiele vrouwen zijn hierover geen gegevens beschikbaar. De bruikbaarheid van de methode lijkt gezien dit hoge percentage afwijkingen betrekkelijk gering. De kritieke punten liggen in de betrouwbaarheid van de beoordeling, de representativiteit van het biopt en de mate van zekerheid over het moment van ovulatie.

Dit blijkt ook uit het onderzoek van Noyes en Haman (75). Zij vonden bij de beoordeling van 1007 biopsieën door twee onderzoekers in 29% exacte overeenstemming, in 62% minder dan een dag verschil, en in 81% een verschil kleiner dan twee dagen. De opgegeven correlatiecoëfficiënt was 0.71. Ten opzichte van de eerste dag van de menstrues kwamen de beoordelingen in 25% overeen, in 60% was er een verschil van een dag en in 80% een van twee dagen. Moeilijkheden bij de beoordeling ontstonden door artefacten bij het nemen van de biopsie, met name in het stroma, maar ook doordat de reactie van de klierbuizen in het hele endometrium niet steeds uniform was. Deze verschillen in secretoire activiteit, waarop o.a. in ons land door Joosse (5) gewezen werd, maken de representativiteit van een endometriumbiopt, zeker wanneer het klein is, enigszins twijfelachtig (35,37).

In het oorspronkelijke artikel van Noyes et al werd de dag van ovulatie bepaald aan de hand van de basale temperatuurcurve. Wanneer de BTC niet de klassieke snelle postovulatoire stijging vertoont, moet deze procedure onbetrouwbaar worden genoemd (46,81,95,118,129). In het

andere geval is zij echter verrassend nauwkeurig (69, 86).

Een aantal auteurs (21,105) vonden bij hun patiënten een goede overeenkomst tussen de datering van het biopt en het aantal dagen, dat na de plasma-LH piek was verlopen. Wanneer geen betrouwbare gegevens over het moment van ovulatie bestaan, zoals b.v. in de publicatie van di Paola et al (79), kan van de uitslag van de histologische diagnostiek niet veel verwacht worden.

Het geheel overziend, lijkt de methode, mits aan technische voorwaarden voor wat betreft het nemen van het biopt en zo nauwkeurig mogelijke bepaling van het moment van ovulatie wordt voldaan, bruikbaar voor het aantonen van grove afwijkingen. In ieder geval is het onjuist, om alleen op de BTC of aan de hand van de resultaten van één cyclus de diagnose te stellen (47,48).

Diagnose met behulp van hormoonbepalingen.

Samenhang met de hormonale aspecten van de bestudeerde cyclus, met name het verloop van het progesteron, kon pas kort geleden worden aangetoond. Beoordelingen aan de hand van chemische pregnaandiolbepalingen in de urine gaven vrij sterk wisselende resultaten te zien. Jones et al (48) vonden bij luteale insufficiëntie steeds lage waarden voor de pregnaandiolexcretie, anderen (63, 127) vonden geen verschillen ten opzichte van normale cycli. Met de modernere radio-immuno assays voor plasma-progesteron kon bij een verkorte luteale fase (van 8 tot 10 dagen) aangetoond worden (61), dat in de hele periode de plasma-progesteronspiegels te laag zijn.

Cooke et al (17) vonden bij normale plasma-progesteronspiegels in de luteale fase normale ontwikkeling van het endometrium, terwijl in gevallen waar histologisch onderzoek aanwijzingen gaf voor vertraagde endometriumontwikkeling het plasma-progesteron laag was. Ook in hun onderzoek werd het laagste punt van de BTC vóór tempera-

tuurelevatie als moment van ovulatie aangenomen.

Askalani et al (2) die geen poging tot dateren van de endometriumbiopsie deden, vonden een goede correlatie tussen plasma-progesteron en morfologie van het praemenstruele endometrium.

Sherman en Korenman (92) toonden verlaagde waarden voor zowel prae- en postovulatoir oestradiol als progesteron aan in cycli met verkorte luteale fase (8 tot 10 dagen); zij beschreven dit beeld als een afzonderlijk ziektebeeld: korte luteale fase, te onderscheiden van luteale insufficiëntie, waarbij de duur van de luteale fase normaal is (93).

Bij cycli die volgens aan de hand van hormoonbepalingen in de urine opgestelde criteria ovulatoir waren was dit verschijnsel eerder beschreven door Loraine en Bell (63), die bij lage oestrogeen excretie in de proliferatiefase lage waarden voor de pregnaandiol excretie in de luteale fase vonden.

Door Jayle, Palmer en Pasquier (45,80) wordt de opvatting gehuldigd, dat een luteale insufficiëntie zowel door een geïsoleerd tekortschieten van de theca-luteïne cellen als door een insufficiëntie van de granulosa kan worden veroorzaakt.

Jones et al (49) vonden na geïnduceerde ovulatie sterk verminderde enzymactiviteit bij histochemisch onderzoek van granulosa cellen in de deficiënte corpora lutea, waarin de aanwezigheid van stomata erop wees, dat ovulatie had plaatsgevonden. Zij weten deze vermindering aan een te geringe LH stimulatie ten tijde van de ovulatie.

Tenslotte moet nog de mogelijkheid vermeld worden, dat een ongunstige oestrogeen-progesteron ratio in de vroege luteale fase aanleiding tot luteale insufficiëntie zou kunnen zijn (50). Gore et al (32) zagen een luteale insufficiëntie ontstaan, wanneer postovulatoir hoge doses stilboestrol werden toegediend. Oestrogeen remt in vitro de activiteit van het 3β hydroxysteroid dehydroge-

nase enzym dat nodig is om pregnenolon in progesteron om te zetten (22).

3.3.2. De spiegels van gonadotropinen bij luteale insufficiëntie.

Enkele auteurs menen, dat wat de urine-uitscheiding van LH bij luteale fase-deficiëntie betreft een hypo- en hyperluteotrope vorm kan worden onderscheiden. De vorm met lage LH-waarden gedurende de hele cyclus, zou behandelbaar zijn met clomipheen citraat, de vorm met hoge LH excretie zou berusten op ovariële insufficiëntie of ongevoeligheid van de hypothalamische regelcentra voor negatieve feedback en zou niet toegankelijk zijn voor therapie (30,127).

Strott et al (101,102) vonden bij luteale insufficiëntie ongeveer normale serum-LH en -FSH waarden, maar een verlaagde FSH/LH ratio in de follikelfase.

Behalve het progesteron was ook het 17α hydroxyprogesteron in het plasma laag (102). Zij veronderstellen, dat een relatief FSH tekort in de follikelfase (met als gevolg een minder goede follikelrijping) aanleiding is voor een verminderde vorming en functioneren van het corpus luteum.

Sherman en Korenman (93) konden deze hypothese geheel onderschrijven, zowel bij gevallen van korte als van insufficiënte luteale fase.

Anderzijds wordt van verschillende kanten aangegeven, dat bij luteale insufficiëntie de serum-LH spiegels in de luteale fase te laag zijn (26,109).

Bij onvoldoende corpus luteum activiteit is het FSH dus nooit verhoogd, maar het LH kan hoog, normaal of laag zijn.

3.3.3. Luteale insufficiëntie en de ovulatie.

Het is niet uitgesloten dat een corpus luteum kan ontstaan zonder dat de oöcyt de follikel heeft verlaten.

In zo'n geval treedt dus pseudo-ovulatie op. Men begon aan deze mogelijkheid te denken toen na behandeling met clomipheen aanwijzingen voor ovulatie werden gevonden, maar beoordeling van de verkregen gegevens in de luteale fase twijfels opriep over de functie van het corpus luteum (104,126).

Van Hall en Mastboom (39) behoren tot de eersten, die hun slechte resultaten met ovulatie-inductie door clomipheen toeschreven aan een dergelijke pseudo-ovulatie: progesteronproductie in een geluteïniseerde, maar niet gebarsten follikel. Slechts bij 20 van de 96 bij hun patiënten gevonden ovulatoire temperatuurreacties duurde de elevatie van de BTC langer dan 12 dagen. Omdat andere parameters van de corpus luteum functie niet in beschouwing werden genomen, was het onmogelijk om bij de 76 korte luteale fases te beoordelen hoe het corpus luteum functioneerde. Zelfs al was dit het geval, dan is zonder histologisch onderzoek niet uit te maken, of een corpus luteum al dan niet ovulatoir is. Het bestaan van anovulatoire corpora lutea is aangetoond door Ludwig en Horowitz (64), die bij een laparotomie toevallig in een ovarium van een orale anticonceptiva gebruikende vrouw een anovulatoir corpus luteum aantreffen, dat volgens hun berekening in de eerste pilcyclus moest zijn ontstaan. De groep van Nalbandov (28) veroorzaakte experimenteel (bij muizen) anovulatoire corpora lutea door het geven van een dosis HCG die voldoende is om ovulatie op te wekken vóór met FSH preparaten volledige follikelrijping was bereikt. Deze situatie is bij de mens bekend door de ovulatie-inducties met gonadotropinen (6). Wanneer onvoldoende FSH werd gegeven kon na HCG injectie enige progesteronproductie worden aangetoond, zonder dat stijging van de oestrogeenexcretie in de "luteale fase" aantoonbaar was.

Jones et al (49) beschrijven met bloed gevulde geluteïniseerde structuren in de hilus van twee ovaria bij een pa-

tiënt met het Stein-Leventhal syndroom, waarbij het niet mogelijk was een stoma te vinden. Er was daarbij dus geen reden om te veronderstellen, dat ovulatie was opgetreden.

Jacobson et al (44) vonden bij culdoscopie corpora haemorrhagica in de ovaria van twee patiënten, die naderhand insufficiëntie van het corpus luteum bleken te vertonen. Hier heeft waarschijnlijk wel een ovulatieplaats gevonden.

Ross et al (86) bepaalden het verloop van de gonadotropinen en enkele ovariële steroïden bij normale vrouwen. Zij vergeleken daarbij de waarden die gevonden werden bij door clomipheen geïnduceerde cycli met onvoldoende luteale activiteit en kwamen tot de conclusie dat met name het verloop van de gonadotropinen niet afweek van het patroon bij de normale cycli.

Yen, Vela en Ryan (124) vonden bij ovulatie-inductie bij zeven patiënten met polycysteuze ovaria een verhoogde LH uitgangswaarde, die door clomipheen toediening sterk steeg. De FSH waarden waren laag en werden door toediening van clomipheen relatief veel minder sterk gestimuleerd. In meer dan de helft van de gevallen trad insufficiëntie van de hormoonproductie in de luteale fase op, hetgeen in overeenstemming is met de door Strott et al geponeerde hypothese.

Het is dus in ieder geval in een deel der gevallen aanemelijk dat vóór het optreden van een insufficiënt functionerend corpus luteum inderdaad een ovulatie heeft plaatsgevonden (zie discussie (49)).

In individuele gevallen is het bewijs voor het bestaan van onvoldoende functionerende "echte" corpora lutea echter niet te leveren, terwijl het aantonen van het tegendeel ook op grote moeilijkheden kan stuiten. Zo lijken de bevindingen van Roy et al (87) niet bruikbaar als bewijs voor pseudo-ovulatie. Zij verrichtten proeflaparotomie na overstimulatie met clomipheen citraat, waarbij

zij in de ovaria grote aantallen follikelcysten, luteinecysten en cystische corpora lutea aantreffen.

In de cystevloeistof konden hoge progesteron concentraties worden aangetoond, maar helaas werd niet systematisch naar stomata gezocht. Het uitblijven van conceptie kan dan ook niet met zekerheid worden verklaard door het ontstaan van anovulatoire corpora lutea.

Stoornissen in de follikelrijping spelen bij polycysteuze ovaria een belangrijke rol. Plate (82) verwierp reeds geruime tijd geleden de toen gangbare opvatting, dat de fibreuze schors van deze ovaria een mechanische belemmering voor de ovulatie vormde. In dezelfde tijd werd bekend, dat testosteron een direct toxisch effect op de oöcyt uitoefent (41).

In het follikelvocht van polycysteuze ovaria werden in ons laboratorium en ook elders (3) zeer hoge testosteron concentraties gevonden. Het extreem grote aantal gedege- nereerde follikels en oöcyten in dergelijke ovaria is recent door meerdere onderzoekers beschreven (88,108). Het is dan ook aannemelijk, dat er een samenhang bestaat tussen oöcytbeschadiging en de "intracorticale" c.q. "pseudo"-ovulatie die voornamelijk bij patiënten met polycysteuze ovaria wordt beschreven.

Oöcytbeschadiging en beginnende atresie werden ook gezien nadat bij normale vrouwen HCG in de follikelfase van de cyclus was toegediend (103). Het is dan ook nodig om de rol van de gonadotropinen bij deze processen nader te beschouwen.

3.3.4. Atresie en luteïnisatie.

De overgrote meerderheid van de in het foetale ovarium aanwezige oögonia komt niet tot rijping en ovulatie, maar wordt atretisch. De groepsgewijze degeneratie van oöcyten vindt vooral plaats na de eerste stadia van de profase van de reductiedeling; na voltooiing van de profase komt deze groepsgewijze degeneratie niet meer voor.

Bij oöcyten die in een later rijpingsstadium degenereren wordt het afwijkend zijn van het ovum duidelijk door de generatie van de omgevende granulosa cellen. De zona pellucida krijgt een homogeen aspect en in latere stadia degenereren de granulosa cellen en vormen een glasachtige membraan.

De oorzaak van de atresie is onbekend. Voor het uitblijven ervan in ver gerijpte oöcyten (en follikels) postuleren Ohno en Smith (76) de aanwezigheid van een normale corona radiata (granulosa) als een noodzakelijke bescherming. Wanneer deze mantel intact is, blijft de oöcyt in rustfase, nadat de profase van de meiose is voltooid. Onderzoek van varkens oöcyten in vitro (106) bevestigde dat een substantie in follikelwand of follikelvloeistof de meiose remt. Contact met de follikelwand was hiervoor niet noodzakelijk. Kort vóór de ovulatie treden veranderingen op in de corona radiata en de zona pellucida en de meiose wordt hervat.

Vermeiden en Zeilmaker (112) toonden bij de rat aan, dat de rijping van de oöcyt een index is voor de gonadotrope stimulatie, waarbij bleek dat de hoeveelheid gonadotropinen, die nodig is om in de bronstperiode de rijping van de oöcyt op gang te krijgen, betrekkelijk klein is. Voor het bewerkstelligen van een ovulatie zijn veel grotere hoeveelheden gonadotropinen nodig; bij een minder krachtige gonadotrope stimulatie treedt luteïnisatie van de granulosa op, maar geen ovulatie. Wanneer gehypofysectomeerde ratten na voorbehandeling met FSH in pro-oestrus, dus vóór de bronst, HCG krijgen toegediend, treedt incomplete luteïnisatie op zonder acute gevolgen voor de oöcytrijping. Onder incomplete luteïnisatie verstaan de auteurs dat de granulosa behalve geluteïniseerde gebieden ook atresie vertoont.

Het fenomeen van de luteïnisatie van granulosa cellen is uitvoerig onderzocht door Channing (11). Zij komt tot de conclusie, dat volledige luteïnisatie alleen kan ont-

staan wanneer voldoende cyclisch AMP (Adenosine Mono Phosphaat), de "second messenger" van alle eiwithormonen, aanwezig is. Aan deze voorwaarden kan alleen worden voldaan wanneer voldoende bouwstof (ATP) en co-factoren aanwezig zijn. Eén van deze kritische factoren is de O_2 -spanning (128), die pas optimaal wordt wanneer de granulosa door bloed wordt bereikt, dus postovulatoir. De groep van Nalbandov (28) postuleerde, dat de aanwezigheid van de oöcyt de belangrijkste factor voor het verhinderen van luteïnisatie van de granulosa zou kunnen zijn. Recent is aangetoond dat het simpele verwijderen van een oöcyt uit een rijpe follikel niet voldoende is om luteïnisatie te laten ontstaan, maar dat bovendien voldoende cyclisch AMP aanwezig moet zijn in de granulosa (68).

Cyclisch AMP is in staat de granulosa van kleine follikels te laten luteïniseren; LH alleen kan dit niet. Channing (12) postuleert ter verklaring van dit verschijnsel, dat in de granulosa van kleine follikels te weinig LH receptoren aanwezig zijn, zodat onvoldoende cyclisch AMP kan worden gemaakt.

Voor het optreden van een normale ovulatie is dus een voldoende follikelrijping nodig die door FSH wordt geïnitieerd.

Tijdens deze rijping stijgt het aantal LH receptoren, waardoor bij sterke LH stimulatie voldoende cyclisch AMP vrijkomt om, wanneer de oöcyt de follikel heeft verlaten, de granulosacellen te laten luteïniseren.

Het is voorstelbaar, dat op verschillende wijzen storingen in dit mechanisme kunnen ontstaan. Zo kan er op het moment van ovulatie onvoldoende cyclisch AMP in de granulosa zijn om volledige luteïnisatie te veroorzaken, er kan een onvoldoende bloedvoorziening en daardoor een zuurstoftekort bestaan en de granulosa kan beschadigd of gedegenereerd zijn. In deze situaties mag een lager dan normale progesteron productie worden verwacht. Het is bij te lage progesteron productie ook op deze fysiolo-

gische gronden niet uit te maken of ovulatie of pseudo-(intrafolliculaire) ovulatie met granulosaluteïnisatie heeft plaatsgevonden.

Bij de rat is aangetoond (121) dat injectie van LH de bloeddorstroming van het ovarium verhoogt. Deze bevinding zal de gynaecoloog die bekend is met de sterke vascularisatie van de meeste polycysteuze ovaria nauwelijks verbazen.

In een situatie van chronische anovulatie met verhoogde LH activiteit kan verwacht worden dat het LH niet alleen de theca interna activiteit beïnvloedt, maar ook de granulosa. Het is daarbij voorstelbaar dat de corona radiata een functieverandering ondergaat en dat de oöcyt zijn normale rustfase voortijdig beëindigt en de meiose voortzet. Wanneer géén ovulatie optreedt, zal degeneratie van de oöcyt optreden. De eerder genoemde follikel-atresie na HCG-behandeling is hiervoor een duidelijk argument (103).

3.3.5. Luteale insufficiëntie en graviditeit.

Abortus is altijd door een ovulatie vooraf gegaan. Het is redelijk om te veronderstellen, dat de in 3.3.4. besproken mechanismen tenminste bij vroege abortus een grote rol spelen. Meestal zal daarbij een combinatie van factoren in het spel zijn, waarbij zowel sprake kan zijn van onvoldoende progesteron productie door het corpus luteum als van beschadiging van de oöcyt. Onvoldoende progesteron productie bij dreigende abortus, een weinig zeggend verschijnsel, is inderdaad herhaaldelijk aangetoond (13,66,78), maar voor zover in de literatuur is na te gaan, nooit in de eerste twee weken na de ovulatie. Door Drac (25) werd de hypothese geformuleerd, dat onvoldoende follikelstimulatie een abnormaal ovum geeft. Hoe interessant deze gedachte ook moge zijn, op het moment lijken er meer argumenten aan te voeren te zijn voor een te vroege LH stimulatie van de rijpende follikel, al

dan niet samen met een te geringe FSH prikkel.

Na ovulatie-inductie met clomipheen citraat is het aantal vroege abortus voor de tiende week relatief hoog. Whitelaw et al (118) vonden bij hun patiënten 24% abortus, waarbij zeven binnen de eerste drie weken van de zwangerschap en één op de 53e cyclusdag optraden. De bevindingen van Kistner (54) waren hiermee in overeenstemming. Jones et al (49) verdeelden hun patiënten die met clomipheen werden behandeld in twee groepen, één die na de ovulatie reageerde met normale luteale functie, en één die herhaaldelijk met (door verandering van de clomipheen dosis niet te beïnvloeden) luteale insufficiëntie reageerde. In de eerste groep traden bij 38 vrouwen 25 concepties op, die 17 maal met de geboorte van een levensvatbaar kind eindigden. De tweede groep van 32 vrouwen leverde slechts drie concepties op, die alle drie met een vroege miskraam eindigden. Alle drie cycli waarin conceptie optrad, toonden uitgesproken hormonale afwijkingen met een endometriumbiopsie waarvan de datering meer dan drie dagen achter lag bij de normale ontwikkeling.

Radwanska en Swyer (83) geven aan, dat in de regel slechts conceptie na clomipheen behandeling optreedt, wanneer in de luteale fase ongeveer normale plasma-progesteronwaarden zijn gevonden. 79 Cycli vertoonden normale hormoonwaarden. Twaalf zwangerschappen traden op, waarbij het aantal abortus niet werd vermeld. In de 16 cycli met onvoldoende progesteron productie trad slechts één zwangerschap op.

Vaitukaitis et al (111) toonden in het reeds in hoofdstuk II besproken onderzoek aan, dat wanneer na toediening van clomipheen citraat een korte luteale fase ontstond, in de follikelfase lage FSH waarden hadden bestaan.

Bij de tien cycli die dit fenomeen vertoonden werden lage waarden voor progesteron en hydroxyprogesteron gevon-

den.

Lehmann et al (60) menen dat het verloop van de hormoonspiegels na geslaagde ovulatie-inductie met clomipheen in de luteale fase normaal is; om te beoordelen of een ovulatie-inductie succesvol is geweest dienen bepalingen van progesteron, hydroxyprogesteron en oestradiol vooral in de luteale fase plaats te vinden.

3.4. Beschouwing

Voor de verklaring van het uitblijven van zwangerschap na ogenschijnlijk geslaagde ovulatie-inductie komen, de literatuur overziende, een groot aantal factoren in aanmerking.

Besproken werden: onvoldoende oestrogeen productie in de follikelfase (tot uiting komend in slecht peri-ovulatoir cervixslijm), onvoldoende steroidogene activiteit van het corpus luteum (zowel tot uiting komend in te korte luteale fasen, als in luteale fasen met een normale duur, maar met onvoldoende progesteronproductie), degeneratie van de oöcyt door gestoorde LH/FSH stimulatie en/of toxisch effect van testosteron, en "pseudo-ovulatie", corpus luteum vorming zonder dat de oöcyt de follikel heeft verlaten.

Vooropgesteld dient te worden, dat het niet mogelijk is om aan de hand van hormoonbepalingen, hoe nauwkeurig ook, het bewijs te leveren dat een ovulatie is opgetreden. Gezien de nauwe samenhang tussen de oorzaken van oöcytbeschadiging en stoornissen in de hormonale activiteit van follikel en corpus luteum is de noodzaak om dit bewijs te leveren echter minder dringend dan bij eerste beschouwing lijkt. In ieder geval kunnen twee hoofdgroepen worden onderscheiden. In de eerste groep is er waarschijnlijk onvoldoende FSH en LH stimulatie

van het ovarium en wordt in de follikelfase van de cyclus onvoldoende productie van oestrogene hormonen gevonden. In de te korte luteale fase vindt men dan lage oestrogeen- en progesteron spiegels als teken dat zowel de granulosa- als de thecacomponent van het corpus luteum onvoldoende functioneert. Gezien de fenomenen die bij dierproeven werden waargenomen (3.3.4.) is het waarschijnlijk dat aan de korte luteale fase geen ovulatie, maar luteïnisatie van de granulosa is voorafgegaan, al dan niet met beschadiging van de oöcyt. Dit laatste is met grote waarschijnlijkheid het geval in de tweede groep, waar een relatief tekort aan FSH ten opzichte van LH lijkt te bestaan. Door deze verkeerde verhouding kan granulosa- en oöcytbeschadiging in de follikelfase optreden, hetzij direct, hetzij via intoxicatie van de oöcyt door (ten gevolge van overmatige LH stimulatie) in overmaat geproduceerd testosteron.

In de luteale fase van dit soort cycli wordt een verminderde functie van de luteïncellen, die uit de granulosa ontstaan, gevonden: alleen de progesteron productie is laag.

Het is niet ondenkbaar, dat bij de minder ernstige vormen van deze dysregulatie ovulatie plaatsvindt, waarbij een oöcyt vrijkomt die te vroeg de eerste reductiedeling heeft hervat. Wanneer een dergelijke oöcyt wordt bevrucht, is de kans op een abnormaal ei groter dan normaal. Men heeft hier te maken met het begrip "intrafolliculaire overrijping" (115,36,67), dat door Witschi en Mikamo werd geïntroduceerd ter verklaring van het grote aantal vroege abortus met chromosomale afwijkingen (7, 10,59). Op grond van het eerder beschrevene lijkt het aanbevelenswaardig de term "overrijping" te vervangen door "vervroegde rijping".

Uit het literatuuronderzoek blijkt dat weinig onderzoek is verricht naar de relatie tussen hormonale stoornissen en verschillende stadia van oöcytbeschadiging.

De nu theoretisch gevonden samenhangen stellen ons echter in staat een ongedwongen verklaring te geven voor het retrospectief gevonden verschijnsel, dat vrouwen met adipositas en hirsutisme (waarbij in de grote meerderheid van de gevallen polycysteuze degeneratie van de ovaria bestaat) in grote meerderheid wel lijken te ovuleren, maar slechts zelden tot conceptie komen na behandeling met clomipheen.

Ook het vóórkomen van abortus bij vrouwen met oligomenorrhoe wordt begrijpelijk tegen de achtergrond van de nu gevonden mechanismen.

Literatuur

1. Abraham G.E., Chamakjian Z.H., Buster J.E., Marshall J.R., Obstet.Gynecol. 43:676, 1974.
2. Askalani H., Wilkin P., Schwers J., Am.J.Obstet. Gynecol. 118:1064, 1974.
3. Baird D.T., persoonlijke mededeling, 1975.
4. Beck P., Grayzel E.F., Young I.S., Kupperman H.S., Obstet.Gynecol. 27:54, 1966.
5. Bell E.T., Loraine J.A., Lancet I:626, 1966.
6. Black W.P., Martin B.T., Whyte W.G., J.Obstet.Gynaecol.Brit.Cwlth. 70:363, 1972.
7. Boué J., Boué A., Spira A., C.R.Sympt.Int. sur l'exploration hormonale de la Grossesse. Paris-Fresnes, 1973. Ed. Sepe, Paris 1974, p. 167.
8. Boutzelis J., Vorys N., Dickey R., Obstet.Gynecol. 38:863, 1971.
9. Cargille C.M., Vaitukaitis J.L., Bermudez J.A., Ross G.T., J.Clin.Endocrinol.Metab. 36:87, 1973.
10. Carr D.H., Yearbook Obstet.Gynecol. p. 31, 1967.
11. Channing C.P., Rec.Progr.Horm.Res. 26:589, 1970.
12. Channing C.P., Endocrinology 95:253, 1974.
13. Charles D., Barr W., Bell E.T., Brown J.B., Fotherby K., Loraine J.A., Am.J.Obstet.Gynecol. 86:914, 1963.
14. Charles D., Loraine J.A., Bell E.T., Fertil.Steril. 17:311, 1966.
15. Cohen M.R., Perez Pelaez M., Fertil.Steril. 16:141, 1965.
16. Compendium gezondheidsstatistiek. 's Gravenhage, 1974, Staatsdrukkerij.
17. Cooke I.D., Morgan C.A., Parry T.E., J.Obstet.Gynaecol.Brit.Cwlth. 79:647, 1972.

18. Corner G.W., Clin.Obstet.Gynecol. 2:64, 1959.
19. Correy J.F., Schokman F.C.M., Austr.N.Z.J.Obstet. Gynaecol. 13:29, 1973.
20. Czygan P.J., Reich W., Arch.Gynäkol. 215:17, 1973.
21. Delforge J.P., Thomas K., Ferin J., Acta Europ. Fertil. 2:141, 1970.
22. Depp R., Cox D.W., Pion R.J., Conrad S.H., Heinrichs W.L., Gynecol.Invest. 4:106, 1973.
23. Dhont M., Vandekerckhove D., Vermeulen A., J.Clin. Endocrinol.Metab. 39:465, 1974.
24. Döring G.K., Arch.Gynäkol. 202:185, 1965.
25. Drac P., Zbl.Gynäkol. 94:918, 1972.
26. Dreykluft R., Magnus U., Zielske F., Hammerstein J., Acta Endocrinol.Kbh. 152:96, 1971.
27. Ed. Comment, Obstet.Gynecol.Surv. 29:140, 1974.
28. El-Fouly M.A., Cook B., Nekola M., Nalbandov A.V., Endocrinology 87:288, 1971.
29. Fukunishi H., Kobe J.Med.Sci. 12:207, 1966.
30. Gigon U., Herzer H., Stamm O., Zarro D., Ztschr. Geburtsh.Gynäkol. 173:302, 1970.
31. Gillam J.S., Fertil.Steril. 6:18, 1955.
32. Gore B.Z., Caldwell B.V., Speroff L., J.Clin.Endocrinol.Metab. 36:625, 1973.
33. Greenblatt R.B., Fertil.Steril. 12:402, 1961.
34. Greenblatt R.B., Barfield W.E., Junck E.C., Ray A.W., JAMA 178:101, 1961.
35. Greenhill J.B., Yearbook Obstet.Gynecol. p. 320, 1950.
36. Guerrero M., 'Rojas L., New Engl.J.Med. 293:573, 1975.
37. Guttmacher A., JAMA 161:855, 1956.
38. Hall E.V. van, Ned.T.Verlosk.Gynaecol. 77:571, 1967.
39. Hall E.V. van, Mastboom J.L., Am.J.Obstet.Gynecol. 103:165, 1969.
40. Hancock K.W., Oakey R.E., Int.J.Fertil. 18:49, 1973.
41. Hoffmann F., Meyer C., Geburtsh.Frauenhkl. 25:1134,

1965.

42. Hohlweg W., Klin.Wschr. 13:92, 1934.
43. Israel S.L. In: Diagnosis and Treatment of menstrual disorders and sterility, Vth ed.. Hoeber, New York, 1967. pp. 491 e.v.
44. Jacobson A., Marshall J.R., Ross G.T., Am.J.Obstet. Gynecol. 101:1025, 1968.
45. Jayle M.F., Palmer R., Int.J.Fertil. 18:33, 1973.
46. Johansson E.D.B., Larsson-Cohn U., Gemzel C., Am.J. Obstet.Gynecol. 113:933, 1972.
47. Jones G.S., de Moraes-Ruehsen M., Am.J.Obstet. Gynecol. 99:814, 1967.
48. Jones G.S., Madrigal-Castro V., Fertil.Steril. 21:1, 1970.
49. Jones G.S., Maffezzoli R.D., Strott C.A., Ross G.T., Kaplan G., Am.J.Obstet.Gynecol. 108:847, 1970.
50. Jones G.S. In: Progress in Infertility. (eds. Behrman S.J. en Kistner R.W.). Little, Brown & co, Boston, 1968, pp. 311-315.
51. Joosse L.A., Ned.T.Verlosk.Gynaecol. 51:278, 1951.
52. Kaufmann C., Klin.Wschr. 12:1557, 1933.
53. Keye W.R., Jaffe R.B., J.Clin.Endocrinol.Metab. 38:805, 1974.
54. Kistner R.W. In: Progress in Infertility. (eds. Behrman S.J. en Kistner R.W.). Little, Brown & co. Boston, 1968, pp. 412-414.
55. Kistner R.W., Fertil.Steril. 17:569, 1966.
56. Kistner R.W., Am.J.Obstet.Gynecol. 92:380, 1965.
57. Kooy G.A., Seksualiteit, huwelijk en gezin in Nederland. Van Loghem en Slaterus, Deventer, 1975. p. 134.
58. Lamb E.J., Colliflower W.W., Williams J.W., Obstet. Gynecol. 39:389, 1972.
59. Lauritzen J.G., Acta Obstet.Gynaecol.Scand. 55: suppl. 52, 1976.
60. Lehmann F., Neale Ch., Bettendorf G., Acta Endocri-

- nol. 66:suppl. 152, p. 70, 1971.
61. Lepoutre L., Dhont M., Vandenkerckhove D., Ann.En-docrinol. 34:327, 1973.
 62. Leyendecker G., Hinckers K., Nocke W., Plotz C.J., Arch.Gynäkol. 218:47, 1975.
 63. Loraine J.A., Bell E.T., J.Obstet.Gynaecol.Br.Cwlth. 75:71, 1968.
 64. Ludwig K.S., Horowitz M., Obstet.Gynecol. 33:696, 1969.
 65. MacGregor A.H., Johnson J.E., Bunde C.A., Fertil.Steril. 19:616, 1968.
 66. Mey R., Zbl.Gynäkol. 88:1729, 1968.
 67. Mikamo K., Am.J.Obstet.Gynecol. 106:243, 1970.
 68. Miller J.B., Keyes P.L., Endocrinology 95:253, 1974.
 69. Murray M., Proc.Roy.Soc.Med. 67:937, 1974.
 70. Naville A.H., Kistner R.W., Wheatly R.E., Rock J., Fertil.Steril. 15:290, 1964.
 71. Netter A., Salomon-Bernard Y., Rev.Franc.Gynaecol. 60:619, 1965.
 72. Nillius S.J., Wide L., J.Obstet.Gynaecol.Brit.Cwlth. 78:822, 1971.
 73. Novak E.R., Editorial, Obstet.Gynecol.Surv. 5:564, 1950.
 74. Noyes R.W., Hertig A.T., Rock J., Fertil.Steril. 1:13, 1950.
 75. Noyes R.W., Haman J.D., Fertil.Steril. 4:504, 1953.
 76. Ohno S., Smith J.B., Cytogenetics 3:324, 1964.
 77. Osmond-Clarke F., Murray M., Bishop P.M.F., J.Obstet.Gynaecol.Brit.Cwlth. 75:531, 1968.
 78. Pannain A., Arch.Obstet.Gynecol. 74:17, 1969.
 79. Paola G.R.J. di, Mendez Ribas J.M., Arrighi L.A., Int.J.Fertil. 16:189, 1971.
 80. Pasquier F., Palmer R., Bull.Fed.Soc.Gynaecol.Fr. 21:399, 1969.
 81. Pildes R.B., Am.J.Obstet.Gynecol. 198:453, 1963.
 82. Plate W.P., Arch.Gynäkol. 198:453, 1963.

83. Radwanska E., Swyer G.J.M., J.Obstet.Gynaecol.Brit. Cwlth. 81:107, 1974.
84. Riley G.M., Evans T.N., Am.J.Obstet.Gynecol. 89:97, 1964.
85. Rock J., Bartlett M.K., JAMA 108:2022, 1937.
86. Ross G.T., Cargille C.M., Lipsett M.B., Rayford P.L., Marshall J.R., Strott C.A., Rodbard D., Rec. Progr.Horm.Res. 21:1, 1970.
87. Roy S., Greenblatt R.B., Mahesh V.B., Junck E.C., Fertil.Steril. 14:575, 1963.
88. Sanyal M.K., Taymor M.L., Berger M.T., Fertil.Steril. 27:501, 1976.
89. Sas M., Kincses L., Zbl.Gynäkol. 50:1584, 1974.
90. Schellekens L.A., Ned.T.Verlosk.Gynaecol. 70:401, 1970.
91. Seki M., Tajima C., Maeda H.R., Seki K., Joshihara T., Am.J.Obstet.Gynecol. 116:388, 1973.
92. Sherman B.M., Korenman S.G., J.Clin.Endocrinol.Metab. 38:89, 1974.
93. Sherman B.M., Korenman S.G., J.Clin.Endocrinol.Metab. 38:145, 1974.
94. Shirai E., Iizuka R., Notaki Y., Fertil.Steril. 23:331, 1972.
95. Siegler S.C., Siegler A.M., Fertil.Steril. 2:287, 1951.
96. Sirbu P., Manescu D., Cirlei A., Stencescu S., Acta Europ.Fertil. 3:23, 1972.
97. Sharf M., Graff G., Kuzminsky T., Obstet.Gynecol. 37:260, 1971.
98. Sharf M., Graff G., Kuzminsky T., Am.J.Obstet.Gynecol. 110:423, 1971.
99. Southam A.L., 1962 Meeting Am.Soc. for study of fertility, cit. Pildes R.B., Am.J.Obstet.Gynecol. 91:466, 1965.
100. Southam A.L., Janowski N.A., JAMA 181:443, 1962.
101. Strott C.A., Cargille C.M., Ross G.T., Lipsett

- M.B., J.Clin.Endocrinol.Metab. 30:246, 1970.
102. Strott C.A., Yoshimi T., Ross G.T., Lipsett M.B., J.Clin.Endocrinol.Metab. 29:1157, 1969.
 103. Tamada T., Matsumoto S., Fertil.Steril. 20:840, 1969.
 104. Townsend S.L., Brown J.N., Johnstone J.W., Adey F.D., Evans J.H., Taft H.P., J.Obstet.Gynaecol. Brit.Cwlth. 73:529, 1966.
 105. Tredway D.R., Mishell D.R., Moyer D.L., Am.J.Obstet.Gynecol. 117:1830, 1973.
 106. Tsafriri A., Channing C.P., Endocrinology 96:922, 1975.
 107. Tsai C.C., Yen S.S.C., J.Clin.Endocrinol.Metab. 32:766, 1971.
 108. Uebele-Kallhardt B., Knörr K., Arch.Gynäkol. 218:189, 1975.
 109. Vandekerckhove D., Dhont M., Ann.Endocrinol. 33:205, 1972.
 110. Vandewiele R.L., Bogumil T., Dyrenfurth I., Ferin M., Jewelewicz R., Warren M., Rizkallah T., Mikhail G., Rec.Progr.Horm.Res. 26:63, 1970.
 111. Vaitukaitis J.L., Bermudez J.A., Cargille C.M., Lipsett M.B., Ross G.T., J.Clin.Endocrinol.Metab. 32:503, 1971.
 112. Vermeiden J.P.W., Zeilmaker G.H., Endocrinology 95:341, 1974.
 113. Vorys N., Gantt L.L., Hamwi G.J., Copeland W.E., Ullery J.C., Am.J.Obstet.Gynecol. 88:425, 1964.
 114. Weir W.C., Weir D.R., Fertil.Steril. 12:443, 1961.
 115. Witschi E., Laguens R., Develop.Biol. 7:605, 1963.
 116. Whitelaw M.J., Fertil.Steril. 17:584, 1966.
 117. Whitelaw M.J., Grams L.R., Stamm W.L., Am.J.Obstet.Gynecol. 90:355, 1964.
 118. Whitelaw M.J., Kalman C.F., Grams L.R., Am.J.Obstet.Gynecol. 107:865, 1970.
 119. Wildschut F., Int.J.Fertil. 15:24, 1970.

120. Wildschut F., Wielenga G., Ned.Tijdschr.Geneesk.
112:2301, 1968.
121. Wurtman R.J., Endocrinology 75:927, 1964.
122. Yen S.S.C., Tsai C.C., J.Clin.Endocrinol.Metab.
33:882, 1971.
123. Yen S.S.C., Tsai C.C., J.Clin.Endocrinol.Metab.
34:298, 1972.
124. Yen S.S.C., Vela P., Ryan K.J., J.Clin.Endocrinol.
Metab. 31:7, 1970.
125. Zander J., Buntru G., Geburtsh.Frauenhkl. 23:871,
1963.
126. Zander J., Leyendecker F., Holzmann K., Runnebaum
B., Heinrichs H.B., Buntru G., Winkhaus J., Hein-
richs H.D., Geburtsh.Frauenkhk. 30:493, 1970.
127. Zarro D., Stamm D., Gigon U., Arch.Gynäkol. 211:185,
1971.
128. Zeilmaker G.H., Hülsmann W.C., Wensinck F., Ver-
hamme C., J.Repr.Fertil. 29:151, 1972.
129. Zuspan F.P., Rao P., Am.J.Obstet.Gynecol. 118:671,
1974.

IV

Bepalingsmethoden van de steroiden en eiwithormonen in het bloed en van hormoonmetaboliëten in de urine

4.1.1. Inleiding.

Als de meest directe parameters voor de functie van ovarium en hypofyse dienen de in de loop van een menstruele cyclus verkregen waarden van oestradiol in het plasma, van LH en FSH in het serum en van pregnaandiol en pregnaantriol in de urine.

Ook het plasma-testosteron kan in de beoordeling betrokken worden, vooral wanneer er sprake is van manifeste overactiviteit van androgenen.

Onderzoek naar het verloop van deze hormonen gedurende een cyclus werd gedaan bij zes gezonde vrouwen met een normale cyclus en met (bij vier van de zes) bewezen fertiliteit. De verkregen waarden dienen als referentie voor de hormoonspiegels bij de patiënten, die, zoals gezegd, behoren tot de groep die van 1 mei 1973 tot 1 mei 1975 op de polikliniek voor endocrinologische gynaecologie wegens anovulatoire infertiliteit met clomipheen werd behandeld.

4.1.2. Principes van het radio-immuno assay.

De radio-immunologische bepalingen (Radio Immuno Assay = RIA) zijn vele malen betrouwbaarder en gevoeliger dan de klassieke biologische en chemische bepalingen. Zij meten echter niet noodzakelijk de hoeveelheid biolo-

gisch actieve stof (21). Bovendien geeft een bloedspiegel slechts de waarde op het moment van afname van het monster weer, terwijl onderzoek van hormonen in de urine een indruk kan geven over de productie tijdens de verzamelperiode.

Een radio-immuno assay berust op competitie tussen een kleine bekende hoeveelheid radio-actief gemerkt hormoon (de tracer) en ongemerkt hormoon voor een beperkt aantal antilichaam-bindingsplaatsen. In een dergelijk systeem leidt een toename van de hoeveelheid ongemerkt hormoon tot een progressief verminderende binding van gemerkt hormoon aan het antilichaam. Met behulp van een bekende toenemende hoeveelheid ongemerkt hormoon (standaard) kan dus een standaard curve worden geconstrueerd, waarmee onbekende monsters worden vergeleken.

Betrouwbaarheid en gevoeligheid van deze bepalingen zijn grotendeels afhankelijk van de zuiverheid en homogeniteit van radio-actief gemerkt antigeen en standaard en van de specificiteit van het gebruikte antilichaam.

De kinetiek van de antigeen-antilichaam reactie is zeer gevoelig voor kleine veranderingen in bij voorbeeld de concentraties van tracer en antilichaam, de incubatietijd en -temperatuur en de eigenschappen van het systeem dat vrij van gebonden antigeen moet scheiden (6). Zonder uiterst nauwkeurige methodiek is het hanteren van een radio-immuno assay dan ook een hachelijke onderneming (18). Het is noodzakelijk, dat bij iedere nieuwe bepalingssreeks opnieuw een standaardcurve wordt ingezet. Betrouwbare uitslagen kunnen in het algemeen alleen worden verkregen, wanneer de standaardcurve een goede helling vertoont (4).

Uit het voorgaande blijkt al, dat de vergelijkbaarheid van uitkomsten van verschillende laboratoria zeer grote problemen kan geven. Het is duidelijk dat deze vergelijkbaarheid wordt vergroot door gebruikmaking van universele standaarden of referentiepreparaten, waarvoor

verwezen wordt naar de aanbevelingen in het WHO rapport over de specificiteit van bepalingsmethoden en standaarden (21).

4.2. De bepaling van eiwithormonen

4.2.1. Bepaling LH en FSH in serum: standaarden, antisera, tracers.

In het Isotopenlaboratorium van het Academisch Ziekenhuis te Groningen (Hoofd: Prof. Dr. M.G. Woldring) is voor de bepaling van LH en FSH een "double antibody" techniek in gebruik, die grotendeels gelijk is aan de door Midgley en Jaffe beschreven methode voor LH bepaling (13). De standaard voor LH is het door de WHO als internationaal referentie preparaat van radio-immuno assay erkende Medical Research Council 68/40, waarvan een uit zeven verdunningen bestaande standaard reeks wordt vervaardigd. Eén ampul MRC 68/40 bevat 77 IE LH. Voor FSH bestaat er nog geen internationaal referentie preparaat. Het MRC preparaat 69/104, dat door ons wordt gebruikt, is echter uitvoerig getest in een gemeenschappelijk onderzoek door een aantal centra (3). Het is een gezuiverd hypofysair extract, dat op basis van radio-immuno assays een potentie heeft van 21.8 IE 2 IRP FSH (het 2 IRP preparaat is de internationale standaard voor (urine) bio-assays) en 131.6 IE 2 IRP LH. De potentie van het preparaat in bio-assay is 10 IE voor LH 25 IE 2 IRP.

Het is duidelijk, dat dit gemengde preparaat minder geschikt is om als internationaal FSH referentie preparaat te dienen, omdat in bepalingssystemen die niet voor één hormoon specifiek zijn zowel LH als FSH worden gemeten. De stabiliteit van het preparaat is voldoende om het als standaard voor radio-immuno assay te laten dienen. De in onze bepaling gebruikte antisera voor LH en FSH

zijn commercieel verkregen (Calbiochem resp. lot 079504 en 389522). Zij werden gemaakt door injectie van een ruw hypofysair extract en Freund's adjuvans bij konijnen. Het FSH antiserum is specifiek, dat voor LH bindt zowel LH als HCG. Zuivering wordt verkregen door selectieve adsorptie.

De tracers bestaan uit met ^{125}J gemerkt LH en FSH, vervaardigd met behulp van de chlooramine-T methode (7). Zuivering vindt plaats door gelfiltratie over een Sephadex G 75 kolom. Voor jodering geschikt LH en FSH worden commercieel verkregen (Calbiochem).

4.2.2. Uitvoering van de bepaling.

De uitvoering van de bepaling begint met incubatie van 0.3 ml. standaard of monster met 0.1 ml. antiserum in 0.3 ml. 1% BSA fosfaatbuffer. Deze incubatie duurt 2 dagen en geschiedt bij 4°C . Hierna wordt 0.1 ml. tracer toegevoegd, waarna nogmaals 5 dagen bij 4°C wordt geïncubeerd.

De scheiding van vrij en aan antilichaam gebonden hormoon wordt daarna tot stand gebracht door toevoeging van een antilichaam-tegen-het-konijnenantilichaam in de vorm van 1 ml. aan cellulose gekoppeld schaap-anti-konijn gammaglobuline (DASP®), dat zich aan de gevormde antigeen-antilichaam complexen hecht, waardoor zij neerslaan (8). Het neerslag wordt geteld in een gammascintillatieteller; het telresultaat wordt ingevoerd in een Wang 700 calculator, waarbij aanvankelijk onder gebruikmaking van de interpolatie formule van Lagrange, later met behulp van logit transformatie (18) de gevonden netto counts met die van de standaard curve worden vergeleken.

4.2.3. Kwaliteit van de bepaling.

De recovery van toegevoegd LH en FSH is compleet. De gevoeligheid van beide systemen (2 standaarddeviaties van

de blanco) is ± 0.5 mE/ml.

Verdunning van het standaardserum met toenemende hoeveelheden 5% gammaglobuline is niet van invloed op de meting van FSH en LH.

De precisie van één inzet is voldoende: voor lage FSH waarden werd in 15 bepalingen van het zelfde monster 3.6 ± 0.3 mE/ml. = 8.3% (sd) gevonden, voor hoge 18.8 ± 0.8 mE/ml. = 4.5% (sd). Voor lage LH waarden (n = 15) werd 5.4 ± 2 mE/ml. = 3.7% (sd) gevonden, voor hoge 45.7 ± 1.3 mE/ml. = 2.8% (sd). In de tijd dat ons onderzoek plaatsvond werden alle bepalingen in triplo gedaan.

De precisie tussen de bepalingen ("between assay") werd aanvankelijk gecontroleerd met behulp van serum pools in het gebied van 50% binding van de standaardcurve; thans wordt bovendien voor beide bepalingen een commercieel verkregen standaard (Caltrol®, Calbiochem) gebruikt. Toetsing van de "between assay precision" vindt thans plaats aan gemiddelde \pm sd van de laatste 10 caltrol uitslagen.

Met de pool uitslagen werd van FSH een variatie coëfficiënt van 9.3% gevonden (n = 15); voor LH bedroeg deze 8.5% (n = 18).

4.3. De bepaling van oestradiol en van testosteron

4.3.1. Bepaling van oestradiol in het plasma; antisera.

Radio-immunologische bepalingen van oestrogenen werden pas mogelijk, toen methoden beschikbaar kwamen om steroid-eiwit conjugaten te maken die bij een proefdier in staat waren steroid-specifieke antilichaamproductie op te wekken.

De groep van Liebermann (10) behoorde tot de eersten, die hierin slaagden. Helaas zijn de meeste antisera niet

erg specifiek, omdat de covalente binding aan het eiwit meestal plaatsvindt dichtbij één van de functionele groepen van het hormoon, waardoor het voor antilichamen minder goed "herkenbaar" wordt. Bij vrijwel alle steroid RIA's is dan ook een extractie en een zuiveringsprocedure voorafgaand aan de eigenlijke bepaling noodzakelijk.

De in het Isotopenlaboratorium van het Academisch Ziekenhuis te Groningen ontwikkelde oestradiol-bepaling heeft dit nadeel niet, omdat uitgegaan wordt van antilichamen tegen $E_2 - 6(0\text{-carboxymethyl})$ oxime, dat aan BSA is gekoppeld. Dit conjugaat werd door Lindner et al (11) voor het eerst beschreven. De specificiteit van deze antilichamen werd met een groot aantal natuurlijke en synthetische oestrogenen getest. In sommige antisera traden belangrijke kruisreacties op met E_1 en E_3 ; acceptabel waren alleen die antisera, waarbij minder dan 2% kruisreacties met E_1 en E_3 werden gevonden.

4.3.2. Uitvoering van de bepaling.

De oestradiol bepaling zoals die in het β -laboratorium van het Isotopenlaboratorium wordt verricht is in extenso beschreven (9).

Per monster worden vier buisjes gebruikt. De eigenlijke bepaling geschiedt in duplo; de twee andere buisjes zijn plasma c.q. standaardcurve "blanco's". Deze zijn noodzakelijk om correctie toe te kunnen passen op storingen, die optreden bij de scheiding van gebonden en vrij antilichaam door dextrane coated charcoal.

Een andere noodzakelijke maatregel is het toevoegen van een overmaat testosteron aan monsters en standaarden om de invloed van hormoon bindende eiwitten uit te schakelen

4.3.3. Kwaliteit van de bepaling.

De recovery van verschillende concentraties toegevoegd

oestradiol bleek 100% te bedragen. De paralleliteit van de bepaling bleek goed te zijn. Deze werd nagegaan door verdunningsproeven met plasma in 5% BSA buffer; de correlatie tussen gemeten oestradiol concentratie en plasma percentage was lineair.

De precisie voor lage waarden oestradiol (10-100 pg/ml.) leverde in 100 onafhankelijke duplo bepalingen een gemiddelde uitslag van 53 (mediaan 49) \pm 10 pg/ml. = 19% op; voor oestradiol uitslagen >100 pg/ml. (79 duplo's): 222 (mediaan 198) \pm 18 pg/ml. = 8%.

De gevoeligheid bepaald als 2 x sd van 23 bepalingen met gemiddeld 3.6 pg/ml. oestradiol was 5.8 pg/ml.

4.3.4. Bepaling van plasma-testosteron.

Het principe van de testosteron bepaling is identiek aan dat van de oestradiol bepaling en is elders beschreven (17).

4.3.5. Kwaliteit van de bepaling.

De recovery van de stijgende concentraties testosteron in 0.1 ml. plasma van een vrouw is 100% in de range van 50 tot 1000 ng.

De precisie is berekend als twee maal de standaarddeviatie van 145 duplobepalingen van zeer lage testosteron concentraties, omdat de bepaling geen echte blanco heeft. Gevonden werd een standaarddeviatie van 4.8 ng. per incubatie, zodat de gevoeligheid 9.6 ng/100 ml. plasma is.

De precisie (within assay) is voor plasma met 13 tot 100 ng% testosteron: 7.7%, voor plasmamonsters met >100 ng%: 4.5%.

De interassay variatie-coëfficiënt voor lage testosteron waarden (standaardplasma van een vrouw) bedroeg 20.7%; voor hoge waarden (standaardplasma van een man) 10.5%. Opgemerkt moet worden, dat de bepaling hogere waarden voor het plasma-testosteron geeft dan andere methoden.

De verklaring moet gezocht worden in het niet toepassen van een chromatografische vóórzuivering, waardoor in het plasma aanwezig dihydrotestosteron met de antilichamen kan kruisreageren. Deze kruisreactie wordt echter beperkt door toevoeging van eiwitoplossingen (17).

4.4. Progesteron en zijn metabolieten

4.4.1. De waarde van de bepaling van pregnaandiol in de urine.

Progesteron, pregn-4- α -3.20 dion, is een steroidhormoon waarvan de productie kort vóór de ovulatie in de granulosa-cellen van de Graafse follikel begint en dat daarna één van de belangrijkste producten van het corpus luteum wordt. Ofschoon het niet alleen in de ovaria, maar ook in de bijnier wordt gemaakt, is de postovulatorische stijging van de progesteron concentratie in het bloed zo groot, dat aan de hand daarvan uitspraken kunnen worden gedaan over het al dan niet aanwezig zijn van een corpus luteum en (met het stijgen van de betrouwbaarheid van de bepaling) over het kwalitatief functioneren daarvan (15).

Omdat in de loop van de onderzoeken de radio-immunologische progesteronbepaling nog niet voor gebruik geschikt was, werd voor de bepaling van de luteale activiteit gebruik gemaakt van een gaschromatografische bepaling van de excretie van de progesteronmetabolieten in de urine.

Progesteron kan op verschillende wijzen worden gemetaboliseerd (14). De metabolieten vallen in vier categorieën uiteen, waarvan de pregnanolonen en de pregnaandiolen de twee belangrijkste zijn. Alleen de laatste groep is van belang voor de klinische praktijk, omdat hier het "echte" pregnaandiol (5 β -pregnaan 3 α -20 α diol)

(P₂) voorkomt, dat kwantitatief de belangrijkste metabooliet is. Deze stof heeft echter ook onder andere pregnenolon als precursor, zodat het pregnaandiol geen uniek metabooliet van het plasma-progesteron is (1).

Sinds het onderzoek van Pearlman (16), die na injectie van gemerkt progesteron sterk wisselende, maar lage fracties radio-activiteit in de uitgescheiden pregnaandiol vond (6 tot 27%) is wel getwijfeld aan het nut van de pregnaandiol bepaling. Later werd in meerdere laboratoria (2,15,20) aangetoond, dat de excretie van pregnaandiol een goede afspiegeling van de plasma-progesteron spiegel geeft, ondanks het feit dat slechts 15% van geproduceerde progesteron als pregnaandiol wordt uitgescheiden (5).

Pregnaandiol wordt in de lever geglucuroneerd en als natrium pregnaandiol glucuronide uitgescheiden.

4.4.2. Uitvoering van de bepalingen.

In het Centraal Klinisch-Chemisch Laboratorium (Hoofd Dr. A. Groen) van het Academisch Ziekenhuis te Groningen wordt een gaschromatografische bepaling van pregnaandiol routinematig uitgevoerd. Tevoren wordt enzymatische hydrolyse met behulp van succus *Helix pomatiae* gedurende 20 uur bij pH 4.7 en 37° C uitgevoerd.

Extractie van de gehydrolyseerde urine vindt twee keer plaats met behulp van ethylacetaat met oestron als interne standaard. Na wassing en droogdampen vindt silyle-ring plaats met bis-(trimethylsilyl) acetamide, waarna injectie op de gaschromatograaf plaatsvindt.

De gebruikte gaschromatograaf is een Becker 409 met vlamionisatie detectie en een all-glass system. De kolom bestaat uit 3% OV 225 op chromosorb WHP 80-100 mesh. De op de recorder verkregen pieken worden vergeleken met die van een standaard mengsel dat 5mg% pregnaandiol, pregnaantriol, androsteron, etiocholanolon, dehydro-epiandrosteron (DHEA) en oestriol bevat.

Uit het verschil in piekoppervlak kan de in het monster aanwezige concentratie van bovengenoemde standaardmetabolieten worden berekend. Bij elke bepaling van de pregnaandiol uitscheiding worden tevens de waarden voor pregnaantriol, androsteron, etiocholanolon en DHEA gemeten.

4.4.3. Kwaliteit van de bepalingen.

Alleen de voor pregnaandiol en pregnaantriol verkregen uitkomsten zijn onderworpen aan kwaliteitscontrole. In 40 bepalingen werd een recovery van 96-100% van pregnaandiol dat in een hoeveelheid van 4 mg/liter aanwezig was, gevonden.

De reproduceerbaarheid van uitslagen in verschillende bepalingen wordt continu nagegaan door één monster van een pool en een commerciële controle urine met bekende concentratie mee te bepalen.

Voor pregnaandiol wordt een gemiddelde waarde van 2.4 ± 0.28 (sd) mg/l. gevonden, d.i. een spreiding van 12%; voor pregnaantriol is de gemiddelde waarde 0.84 ± 0.13 mg/l.: een spreiding van 13%.

De specificiteit van de bepalingen is niet nagegaan, maar inhaerent aan een gas-vloeistofchromatografie analyse is, dat de identiteit van een piek niet altijd vaststaat.

Het is daarom routine, dat bij twijfel over de identiteit van een gevonden piek een massaspectrometrische analyse wordt uitgevoerd. De specificiteit lijkt ruimschoots voldoende te zijn voor klinische doeleinden.

4.4.4. Verantwoording van het gebruik van ochtendurines in plaats van 24 uren monsters.

Het is gebruikelijk de hormoonexcretie in urine in 24 uren porties te bepalen. De voordelen hiervan zijn, dat bij ongevoelige methoden een grotere hoeveelheid

materiaal voor analyse beschikbaar is en dat soms, zoals bij cortisol metabolieten, een indruk wordt verkregen over de totale 24 uren productie van het actieve hormoon.

Omdat voor gaschromatografische bepalingen maar 10 ml. urine nodig is, terwijl ons onderzoek in belangrijke mate gediend zou zijn met een zo mogelijk dagelijkse bepaling van de pregnaandiol excretie in de urine, onderzochten wij in hoeverre het mogelijk was, de pregnaandiol excretie in ochtendporties te bepalen, waarbij de standaardisatie zou moeten plaatsvinden door de uitgescheiden hoeveelheid pregnaandiol per gram creatinine te berekenen.

Daartoe werd eerst in 38 24 uren urines de regressie vergelijking van de pregnaandiol/creatinine ratio voor de pregnaandiol excretie berekend: deze bleek te zijn $Pd/gr. creat. = 0.075 + 0.77 Pd/24 \text{ uur}$, de correlatiecoëfficiënt was 0.9625.

Vervolgens werd aan 21 vrouwen verzocht, de ochtendurine en de rest van de 24 uren urine gescheiden in te leveren. 20 ml. van de ochtendurine werd apart gehouden, de rest werd aan de 24 uren urine toegevoegd en gemengd. In beide monsters werd de pregnaandiol en de creatinine bepaald (de laatste met een auto-analyser methode met een sd van de standaard $\pm 9\%$). De correlatiecoëfficiënt tussen de beide Pd/creatinine ratio's bleek $r = 0.9287$, de regressielijn verliep volgens $y = 0.08 + 0.986 x$. Metcalf (12) vond bij een dergelijk onderzoek een correlatie van de Pd/creatinine ratio en de 24 uren extractie $r = 0.9664$.

Ook wij vinden voor de gaschromatische bepaling van steroid metabolieten in de urine, dat bepaling van de steroid/creatinine ratio uit een ochtendportie een betere vergelijkbaarheid van de dagelijkse excretie oplevert dan de resultaten uit 24 uren urines.

Literatuur

1. Arcon M., Gurside E., Vandewiele R., Lieberman S., J.Clin.Endocrinol.Metab. 34:312, 1972.
2. Askalani H., Smuk M., Sugar J., Delvoye P., Robyn C., Schwes R., Am.J.Obstet.Gynecol. 118:1054, 1974.
3. Bangham D.R., Bergman J., Burger H., Cotes P.M., Furnival B.E., Hunter W.M., Midgley A.R., Mussett M.V., Reichert L.E., Rosenberg E., Ryan K.J., Wide L., J.Clin.Endocrinol.Metab. 36:647, 1973.
4. Chang P.C., Rabin R.T., Yu M., Endocrinology 96:973, 1975.
5. Dorfman R.I., Ungar F. In "Metabolism of Steroid Hormones". Academic Press, London, 1965. p. 602.
6. Ekins R.P., Newman B., Acta Endocrinol.Kbh.suppl. 147, 1970.
7. Greenwood F.C., Hunter W.M., Glover B.F., Bioch.J. 89:114, 1963.
8. Hollander F.C. den, Schuurs A.H.W.M. In:"Radio Immuno Assay Methods". (K.E. Kirkham en W.H. Hunter eds.). Livingstone, Edinburgh, 1971. p. 419.
9. Jurjens H., Pratt J.J., Woldring M.G., J.Clin.Endocrinol.Metab. 40:19, 1975.
10. Liebermann S., Erlanger B.F., Bieser S.M., Agate F.J., Rec.Progr.Horm.Res. 15:165, 1959.
11. Lindner M.R., Perel E., Friedlander A. In:"Research in Steroids", vol. IV. (M.Finkelstein, C. Conti, A. Kloppe, C. Cassano eds.). Pergamon Press, Oxford, 1970. p. 197.
12. Metcalf M.G., Am.J.Obstet.Gynecol. 117:1041, 1973.
13. Midgley A.R. jr., Jaffe R.B., J.Clin.Endocrinol. Metab. 28:1699, 1968.
14. Molen H.J. van der, Aakvaag A. In:"Hormones in

- Blood". (C.H. Gray, A.L. Bacharach eds.). Academic Press, London, 1967. p. 221.
15. Molen H.J. van der, Groen D., J.Clin.Endocrinol. Metab. 25:1625, 1965.
 16. Pearlman W.H., Biochem.J. 67:1, 1957.
 17. Pratt J.J., Wiegman R., Lappöhn R.E., Woldring M.G., Clin.Chim. Acta 59:337, 1975.
 18. Rodbard D., Clin.Chem. 20:1255, 1974.
 19. Schuurs A.H.W.M., Wijngaarden C.J. van, Acta Endocrinol.Kbh.suppl. 141:12, 1970.
 20. Sobota J.J., Kirton K.T., Obstet.Gynecol. 25:2199, 1970.
 21. W.H.O.-Report, Acta Endocrinol.Kbh. 71:625, 1972.

V

Het verloop van de gemeten hormoonwaarden in spontane cycli

5.1. Beschrijving van de proefpersonen en van de wijze waarop de bloed- en urinemonsters werden verzameld

Om de resultaten van een behandeling in termen van laboratoriumwaarden te kunnen beoordelen is het noodzakelijk om over normale waarden te beschikken. Voor de gonadale steroiden en de gonadotropinen bij de vrouw, die in de loop van de cyclus sterk wisselen, zijn dagelijkse bepalingen gedurende een complete menstruele cyclus nodig. Omdat niet denkbeeldig is, dat daarin bij nulliparae afwijkingen van de norm voorkomen die in een verminderde fertiliteit zouden kunnen resulteren, werd voor ons onderzoek naar normaal fertiele vrouwen als proefpersonen gezocht. Door verschillende omstandigheden werd slechts van vier dergelijke vrouwen een complete cyclus verkregen, zodat toch een beroep moest worden gedaan op de verpleegkundigen van onze kliniek, waarvan er drie (nulligravidae) bereid bleken hun medewerking te verlenen. Eén van de drie moest echter uitvallen omdat onvoldoende monsters werden verkregen.

Alle vrouwen genoten een goede gezondheid. Bij allen was de cyclus regulair met een gemiddelde duur van 28.4 ± 1.4 (sd) dagen, mediaan 28 dagen. Géén van de proefper-

Tabel V-1. Gegevens van de regelmatigmenstruerende vrouwen uit
wier dagelijkse hormoonbepalingen gedurende een cyclus
de referentie curves werden geconstrueerd.

proefpersoon	leeftijd	grav.	para	cyclus	bijzonderheden
I	19	0	0	28/4	-
II	27	0	0	31/6	-
III	35	IV	IV	28/3	tubacoagulatie per laparoscopie sinds 1 jr.
IV	36	V	IV	27/4	♂ vasectomie
V	35	IV	III	27/5	IUD
VI	31	II	II	28/3	tubacoagulatie sinds 1½ jr.

sonen had korter dan een jaar tevoren hormonale contraceptie gebruikt.

De belangrijkste gegevens zijn vermeld in tabel V-1. Dagelijks, te beginnen binnen 24 uur na het begin van de menses, werd tussen 8.15 en 9.00 uur een venapunctie verricht, waarbij 16 ml. bloed werd opgevangen in plastic buisjes met EDTA en 10 ml. in gewone buizen. Bij de gehuwde vrouwen gebeurde dit thuis; onmiddellijk na aankomst in de kliniek werd het bloed afgedraaid om serum en plasma van de cellulaire elementen te scheiden. Direct daarna werden de monsters bij -20° C ingevroren. Bij de nulligravide vrouwen werd de venapunctie door het laboratoriumpersoneel in de kliniek verricht. Door wisselende diensten van deze drie proefpersonen werd een aantal malen geen monster verkregen en daardoor waren geen van deze cycli (wat serum en plasmawaarden betreft) geheel compleet.

De series van de ochtendurines waren allen volledig. Direct na aankomst in de kliniek werden de monsters naar de afdeling gaschromatografie van het Centraal Klinisch-Chemisch Laboratorium vervoerd, waar ze werden ingevroren tot de bepaling.

Alle serum- en plasmabepalingen werden in één inzet bepaald, behalve de LH-bepalingen van de proefpersonen III en IV, die in twee inzetten werden verwerkt.

5.2. Gegevens van de onderzochte cycli

De zes onderzochte cycli vertoonden een duidelijke LH-piek in het midden van de cyclus.

De gemiddelde duur was 26.7 ± 2.1 (sd) dagen, mediaan 27 dagen. De gemiddelde duur van de periode tussen LH-piek en eerste dag van de volgende menses bedroeg

14.3 ± 0.6 (sd) dagen, mediaan 14 dagen.

De follikelfase duurde gemiddeld 11.7 ± 3.05 (sd) dagen, mediaan 13 dagen.

De dag waarop de hoogste LH waarde werd gevonden, werd in navolging van Ross et al (33) dag 0 genoemd. De daarop volgende dagen kregen positieve rangnummers, de daaraan voorafgaande negatieve.

Alle hormoon waarden werden gerangschikt volgens deze nummering.

5.3. Onderzoek naar de verdeling van de verkregen hormoonwaarden

5.3.1. Inleiding.

Kletzky et al (15) hebben aannemelijk gemaakt, dat de verdeling van de gonadotropinen waarden (en van de ovariële steroïden oestradiol en progesteron) over de dagen van de verschillende cyclusfasen het best als log-normaal kan worden omschreven.

In de log-normale verdeling is de spreiding ten opzichte van het gemiddelde naar beneden kleiner dan naar boven; bij de constructie van het 95% betrouwbaarheidsinterval ligt dus het percentiel 2.5 dichterbij het gemiddelde dan het percentiel 97.5. Negatieve waarden in het 95% betrouwbaarheidsinterval, die voor kunnen komen, wanneer dit, uitgaande van de normale verdeling, berekend wordt uit het interval $\bar{x} \pm 2 \text{ SEM}$ (gemiddelde ± 2 maal de standaard fout van het gemiddelde) zijn niet mogelijk.

5.3.2. Uitvoering van de toetsing op normaliteit met behulp van probits.

Evenals in het bovengenoemde onderzoek werd, om een indruk te krijgen over de verdelingswijze van de hormoonwaarden die bij onze proefpersonen werden gevonden, van

lineariteitsonderzoek door probittransformatie (6) gebruik gemaakt.

Omdat deze techniek weinig bekend is, is het zinvol er een korte en enigszins gesimplificeerde uiteenzetting over te geven. Een uitvoeriger uiteenzetting kan gevonden worden bij Bliss (6).

Met behulp van probittransformatie kan men zonder vóóronderstellingen betreffende de verdelingsvorm de aanpassing van een te onderzoeken steekproef aan de normale verdeling toetsen.

Elke veranderlijke x kan worden gestandaardiseerd door hem te meten in afwijkingen van zijn gemiddelde μ in termen van de spreiding σ en heeft de vorm $(T =) \frac{x - \mu}{\sigma}$, met een gemiddelde = 0 en een spreiding = 1.

De normale verdeling heeft de bekende klokvorm en het is duidelijk, dat bij elke afwijking y in de richting van de ordinaat twee afwijkingen x in de abscisrichting horen. In de cumulatieve normale verdeling is dat niet meer het geval: de vorm van de curve is s-vormig (een ogive) en bij elk punt x op de abscis behoort één afwijking in de richting van de ordinaat.

In de cumulatieve standaard-normale kansverdeling behoort bij elke afwijking in de richting van de ordinaat één waarden van T en één linkse kans (= fractiel) = cumulatieve kans.

De linkse kansen van T zijn in vele min of meer uitvoerige tabellen gepubliceerd en behoren tot het standaard-instrumentarium van de statistische analyse.

Wanneer men nu wil onderzoeken of een steekproef normaal is verdeeld, hoeft men slechts voor alle waarden van x in de steekproef de relatieve cumulatieve frequentie te bepalen, die gelijk is aan de cumulatieve kans.

In de tabel kan de bijbehorende waarde van T worden opgezocht en door elke waarde van x tegen de bijbehorende waarde van T uit te zetten kan de relatie tussen beide grootheden visueel worden geïnspecteerd. Het zal duide-

lijk zijn, dat de relatie lineair is, wanneer x normaal is verdeeld. Wanneer men op de abscis de waarden van x afzet en op de ordinaat de bijbehorende waarden van T verkrijgt men bij toenemende steekproefgrootte een puntenlijn, die tot een rechte nadert. In het ideale geval voldoet deze rechte aan de vergelijking

$T = \frac{x - \mu}{\sigma} = \frac{1}{\sigma}x - \frac{\mu}{\sigma}$ en gaat dus door de punten $(0, -\frac{\mu}{\sigma})$ en $(\mu, 0)$. De toets voor aanpassing bestaat in feite uit het vergelijken van de empirisch gevonden waarden van T met de theoretische lijn $T = \frac{x - \mu}{\sigma}$; zijn er systematische afwijkingen tussen de empirisch gevonden en theoretische waarden, dan is de te onderzoeken steekproef niet normaal verdeeld.

Het heeft praktische voordelen om de puntenlijn in één quadrant van het assenkruis te kunnen construeren en daarom worden de waarden van T in de richting van de ordinaat 5 eenheden opgeschoven, met als resultaat:

$$T+5 = \text{probit} = 5 + \frac{x - \mu}{\sigma}.$$

Alle bewerkingen met probits kunnen daardoor in de praktijk in het rechter bovenkwadrant van het assenkruis worden uitgevoerd, hoe groot het traject van de veranderlijke ook is.

De LH en FSH waarden per ml. werden afgerond naar de dichtstbij zijnde gehele milli-eenheid, de oestradiolwaarden naar het dichtstbij zijnde veelvoud van 25 picogram. Omdat het verschil tussen laagste en hoogste pregnaandiol- en pregnaantriolwaarden zoveel geringer is, werd hier geen afronding toegepast.

Vervolgens werden voor de follikel- en luteale fase afzonderlijk de cumulatieve frequentie-verdeling opgesteld en de relatieve cumulatieve frequenties berekend. De waarden van de peri-ovulatoire dagen -1, 0 en +1 werden hierbij buiten beschouwing gelaten.

In een tabel (42) werden de bij deze percentages behorende probits opgezocht, waarna de waarden en hun probits

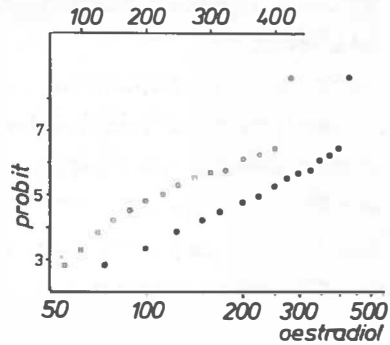
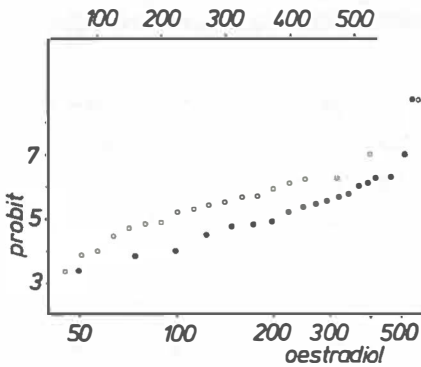


Fig. 5-1a

Probits van de oestradiolwaarden in de follikelfase (O), fig. 5-1a, en in de luteale fase, fig. 5-1b. Logarithmische transformatie (●) resulteert in beide gevallen in een vrijwel lineaire puntenreeks.

Fig. 5-1b

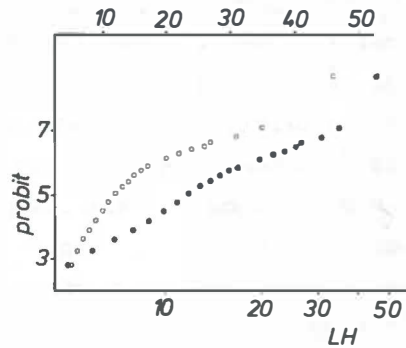
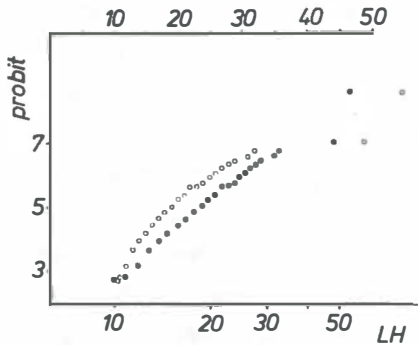


Fig. 5-2a

Probits van de LH waarden in de follikelfase (O), fig. 5-2a, en in de luteale fase, fig. 5-2b. Ook hier levert logarithmische transformatie een puntenreeks op die de lineariteit redelijk benadert.

Fig. 5-2b

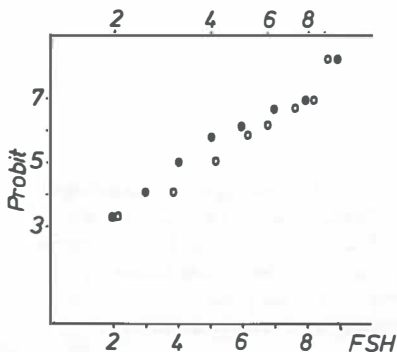


Fig. 5-3

Probits van de FSH waarden in de follikelfase (O). Logarithmische transformatie levert een duidelijke vermindering op van de curvatuur die in het lineaire plot duidelijk aanwezig is.

in een lineair coördinaten systeem tegen elkaar werden uitgezet.

Voor de follikelfase en de luteale fase van de in plasma en serum bepaalde hormonen wordt een curvilineaire puntenreeks verkregen, waardoor het onwaarschijnlijk wordt, dat de LH, FSH en oestradiol waarden in deze beide cyclusfasen normaal zijn verdeeld.

De gevonden curvatuur wijst op scheefheid naar rechts en in alle gevallen resulteert uitzetten van de waarden op een logarithmische schaal tegen de probits op een lineaire in een vermindering van de eerder gevonden curvatuur (fig. 5, 1-3).

Dit maakt waarschijnlijk dat met het aannemen van een log-normale verdeling een betere benadering voor de werkelijke verdelingswijze wordt bereikt, dan wanneer men van een (pseudo)normale verdelingsvorm uitgaat.

De puntenreeks die ontstaat wanneer de bij de relatieve cumulatieve frequentie van de (tot veelvoud van 10 ng afgeronde) testosteron waarden behorende probits en de testosteronwaarden tegen elkaar worden uitgezet geeft geen aanleiding om een logarithmische verdelingswijze van het testosteron aan te nemen; zowel in de follikelfase als in de luteale fase wordt een redelijke rechte gevonden (fig. 5-4).

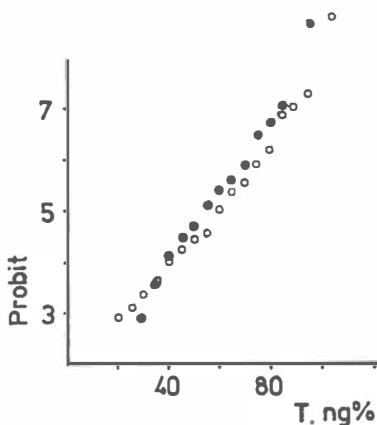


Fig.5-4.

Probits van de testosteronwaarden in de follikelfase (o) en in de luteale fase (●). Door het ontbreken van duidelijke curvatuur is een normale verdeling van de testosteronwaarden aanvaardbaar.

5.3.3. De verdelingswijze van pregnaandiol- en pregnaantriolwaarden.

Voor pregnaandiol en pregnaantriol werd eveneens een verdelingsonderzoek met probits verricht. De probits van de pregnaandiol waarden in de luteale fase liggen niet op een rechte; na log-transformatie (fig. 5-5) blijkt evenmin een rechte te worden gevonden; het vermoeden is gewettigd, dat de populatie niet homogeen is, omdat bij de pregnaandiolwaarde 2.7 een knik te zien is. Met behulp van de rankit test (7,12) werd daarom de verdeling van de pregnaandiolwaarden op de dagen, waarop in het algemeen waarden > 2.7 mg/gr creatinine waren gevonden (de dagen 6 t/m 10) en de overige dagen van de luteale fase afzonderlijk nagegaan. Inderdaad blijkt (fig. 5-6a en b) dat twee afzonderlijke verdelingen aanwezig zijn, die beiden waarschijnlijk log-normaal zijn verdeeld.

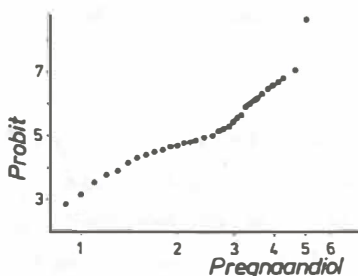


Fig.5-5

Logarithmisch plot van de luteale pregnaandiolwaarden. De verdeling is niet homogeen.

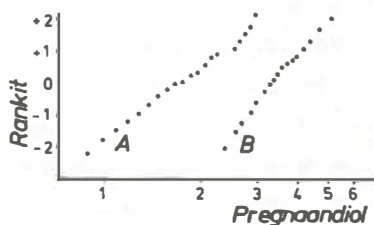


Fig.5-6

Rankits van de pregnaandiolwaarden op de dagen +2 t/m +5 en +11 t/m +14 (A) en van de dagen +6 t/m +10 (B). Er lijken twee log-normaal verdeelde populaties te bestaan.

De probits van de pregnaantriolwaarden (fig. 5-7) blijken in het lineaire coördinatenstelsel een redelijke rechte te vormen, waardoor niet kan worden uit-

gesloten, dat de pregnaantriolwaarden in de luteale fase van de cyclus normaal zijn verdeeld.

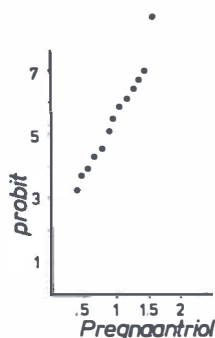


Fig. 5-7

Probits van de pregnaantriolwaarden in de luteale fase. De homogeniteit is enigszins twijfelachtig; een normale verdeling van de pregnaantriolwaarden is echter aannemelijk.

5.3.4. De rankit-test toegepast op de gemeten waarden van de afzonderlijke dagen.

Met behulp van de rankit-test is het mogelijk, aan de hand van een gering aantal waarnemingen enig inzicht te krijgen in de verdelingswijze van een steekproef. Door verschillende penetrerende steekproeven met elkaar te vergelijken, bij voorbeeld de combinaties dag +2 en +4 met dag +1 en +3, kan een vrij stellige uitspraak worden gedaan (7). Hierbij bleek, dat ook puntenreeksen voor LH, FSH, oestradiol en pregnaandiol in het lineaire coördinatenstelsel systematisch curvatuur vertoonden, zodat aannemelijk is, dat ook de hormoonwaarden op individuele dagen log-normaal zijn verdeeld. Dit kon worden bevestigd door de rankits in een log-lineair coördinatenstelsel uit te zetten.

Om deze reden werd het "95% betrouwbaarheidsinterval" van de hormoonwaarden bepaald door de aangepaste probit-log rechte te construeren. De waarden behorend bij probit 3.04 en 6.96 vormen dan de ondergrens (2.5 percentiel) c.q. de bovengrens (97.5 percentiel) van het "95% betrouwbaarheidsinterval" op de betreffende cyclus-

dag.

Voor de waarden die op de afzonderlijke dagen voor de pregnaantriol excretie en voor het plasma-testosteron gehalte waren gevonden werden geen aanwijzingen voor een log-normale verdeling gevonden.

5.4. De referentiecurves

5.4.1. Het 95% betrouwbaarheidsinterval van de gonadotropinen.

De op deze wijze gevonden normaal curves zijn weergegeven in de figuren 5-8 tot en met 5-13.

De wijde intervallen stellen ons met name wat de gonadotropinen betreft niet in staat om variaties van dag tot dag te onderscheiden. De meest voor de hand liggende verklaring is vanzelfsprekend, dat het aantal waarnemingen per cyclusdag te gering is geweest; het blijkt echter, dat ook in het veel omvangrijker materiaal van Kletzky et al de normale waarden van de gonadotropinen zo'n sterke overlap vertonen.

De LH- en FSH-bepalingen hebben daardoor als enige verdienste dat een onderverdeling in klinische categorieën kan worden opgesteld, respectievelijk met lage, normale en hoge LH- en FSH-waarden (15,16).

5.4.2. Het patroon van de LH en FSH afgifte.

Dit teleurstellende resultaat wordt, zoals in 4.1.2. reeds gesteld, mede veroorzaakt, doordat, anders dan bij bepalingen in de urine, waarbij de integrale excretie tijdens de verzamelperiode wordt bepaald (20,34), met bepalingen in serum of plasma in het algemeen geen inzicht wordt verkregen in de in een bepaalde tijd geproduceerde hoeveelheid hormoon. De verkregen momentopnames kunnen vooral dan tot verkeerde interpretaties

leiden, wanneer de spiegels van de te meten hormonen aan fluctuaties onderhevig zijn. Dit blijkt voor de gonadotropinen inderdaad het geval te zijn.

Midgley en Jaffe (27) en Saxena et al (35) vonden bij frequente bepalingen van het serum-LH, met intervallen van maximaal 30 minuten, respectievelijk in de follikelfase en in beide cyclusfasen sterk wisselende waarden. Midgley en Jaffe wezen daarbij op het zogenaamde "bouncing", het voorkomen van een aantal kleinere LH-pieken, in de luteale fase. Later (28) vonden zij en Yen et al (43) een duidelijk rythme op korte termijn, dat niet kon worden verklaard door verandering in de verdwijningssnelheid van LH uit het bloed. Deze laatste is namelijk constant (17).

De variaties blijken min of meer pulsvormig te verlopen, waarbij de puls frequentie en -hoogte in verschillende cyclusfasen verschilt (35,43). Waarschijnlijk wordt het LH in twee componenten afgegeven, een continue en een puls vormige, waarbij de tweede op de eerste is gesuperponeerd. De pulshoogte is maximaal tijdens de periode van de LH-piek en de puls vorm verdwijnt in de late follikelfase; er is gepostuleerd (43) dat veranderingen in steroïdhormoon concentratie de pulshoogten reguleren, omdat bleek dat een infusie met 17β oestradiol het sterk pulsatiele LH-patroon bij postmenopauzale vrouwen zeer snel liet afvlakken tot een meer sinusoïde oscillatie. De frequentie van de pulsen in de mid- en laat luteale fase ligt lager dan in de rest van de cyclus; vermoed wordt dat dit een gecombineerd effect van oestradiol en progesteron is (35,45).

Ook de afgifte van FSH blijkt in pulsen te geschieden, waarbij de frequentie ongeveer gelijk zou zijn aan die van de LH, maar waarbij de pulshoogte aanmerkelijk geringer is.

Enerzijds kan dit verband houden met de lagere absolute waarden, die voor FSH in de verschillende cyclusfasen

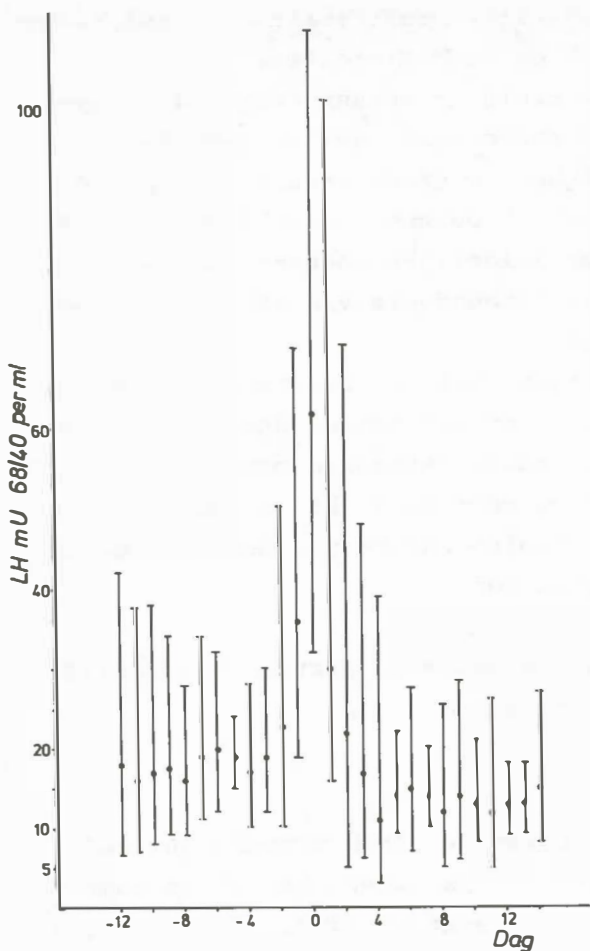


Fig.5-8

De gemiddelde waarden van het serum LH in een cyclus van zes gezonde vrouwen.

Dag 0 is de dag van de hoogste gemeten LH waarde.

De punten geven de waarden aan, de verticale lijn het 95% betrouwbaarheidsinterval.

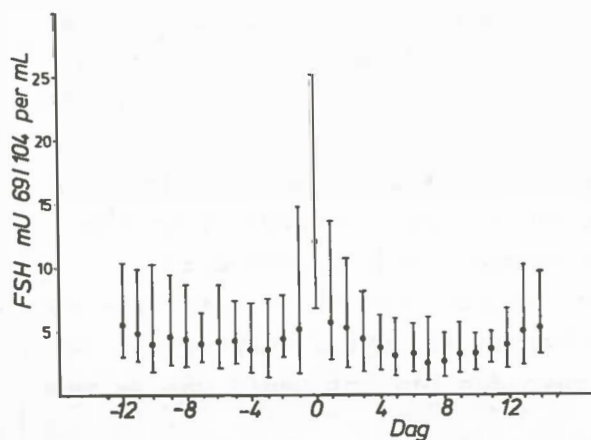


Fig.5-9

De gemiddelde waarden van het serum FSH in een cyclus van zes gezonde vrouwen.

Dag 0 is de dag van de hoogste gemeten LH waarde, de verticale lijn geeft het 95% betrouwbaarheidsinterval van de gemeten waarden.

worden gevonden, anderzijds heeft oestradiol een duidelijker remmend effect op de FSH afgifte.

Tot nu toe is geen correlatie tussen oestradiol spiegels en LH variaties aangetoond; wel is gebleken dat toediening van clomipheen citraat resulteert in een toename van de hoogte van LH pulsen, terwijl ook het FSH stijgt, echter zonder duidelijke toename van de pulsatiliteit (bij een clomipheendosis van 100 gr. dd. gedurende 4 dagen) (45).

Uit deze gegevens blijkt, dat de resultaten van gonadotropinenbepalingen die niet met korte tussenpozen zijn uitgevoerd, met grote voorzichtigheid moeten worden geïnterpreteerd. Met name voor LH lijkt een één maal per dag genomen monster onvoldoende om per dag optredende veranderingen te signaleren.

5.4.3. Bespreking van de gevonden curves en vergelijking met de literatuur.

5.4.3.1. LH.

Het gemiddelde verloop van de gonadotropinenspiegels in de zes normale cycli blijkt goed overeen te komen met de gegevens uit de literatuur (1,3,22,27,29,33,41, 46) (fig. 5-8).

In de follikelfase, van dag -12 tot dag -4, schommelt het gemiddelde serum-LH tussen 15 en 20 mE 68/40 per ml. Na dag -4 treedt een geleidelijke stijging op met een maximum op dag 0. Na dag +4 bevindt het LH zich tussen 10 en 15 mE/ml., dus wat lager dan in de proliferatiefase.

De gevonden grote spreiding in de vroege proliferatiefase is voornamelijk een artefact, doordat cycli van verschillende lengte om dag 0 zijn gegroepeerd.

In fig.5-14 zijn de LH waarden van de laatste drie en de eerste drie dagen van de zes cycli gegroepeerd rond de waarde, die werd gevonden bij het begin van de men-

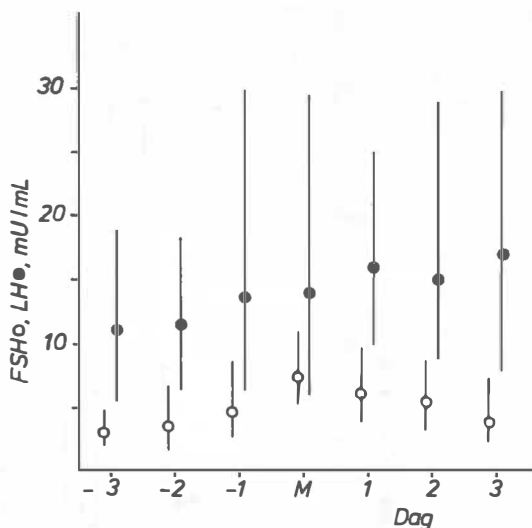


Fig.5-14 De gemiddelden van de gemeten LH- en FSH waarden en hun 95% betrouwbaarheids interval, gerangschikt rondom de eerste dag van de menses (M). De dagen met een negatief teken zijn de laatste dagen van de onderzochte cycli, de positief genummerde de eerste.

ses.

De spreiding blijkt aanmerkelijk geringer te zijn geworden, terwijl de gemiddelde LH waarde reeds praemenstrueel iets begint te stijgen. De sterke spreiding en lange duur van de LH piek moet worden verklaard door de reeds besproken pulsvormige afgifte van LH tijdens de periode van de LH piek, waardoor niet vaststaat, dat een gevonden maximale waarde ook werkelijk onmiddellijk vóór de ovulatie werd afgenomen.

5.4.3.2. FSH.

Op de dag van de LH-piek wordt ook een verhoogde serum-FSH spiegel gevonden, die echter zeer veel geringer is dan de LH verhoging. Dit stemt overeen met de meeste gepubliceerde curves voor serum- c.q. plasma-FSH (27, 29,

Fig.5-10
De gemiddelde waarden
van het oestradiol in
een cyclus van zes ge-
zonde vrouwen.
Dag 0 is de dag van de
hoogste gemeten LH
waarde.
De punten geven de
waarden aan, de verti-
cale lijn hun 95%
betrouwbaarheidsinter-
val.

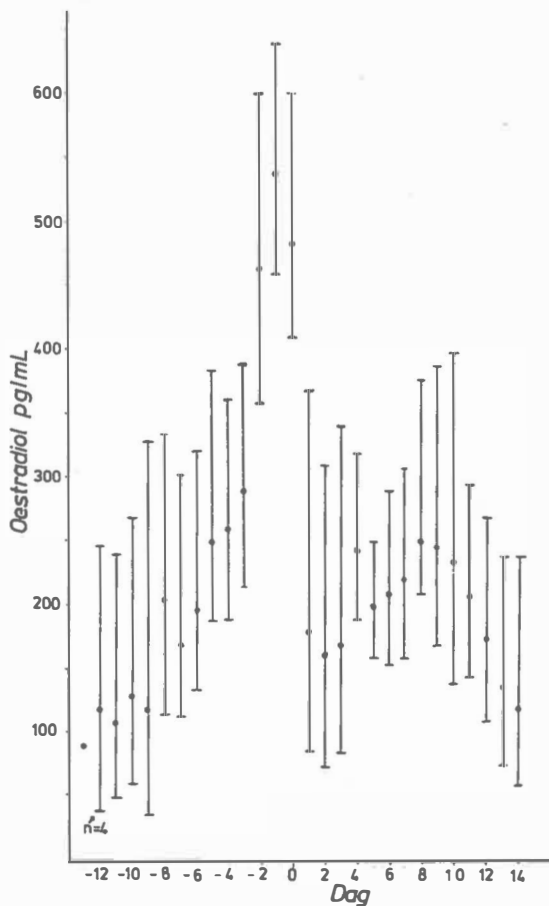
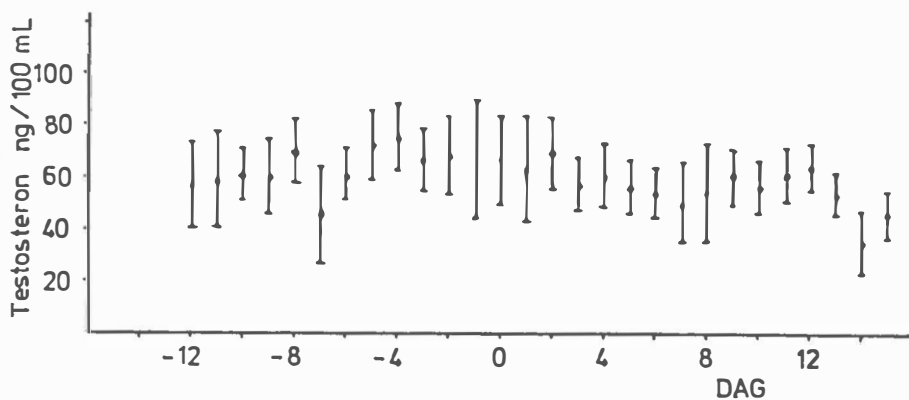


Fig.5-11 De gemiddelde waarden van het testosteron in een cyclus van zes gezonde vrouwen. Dag 0 is de dag van de hoogste gemeten LH waarde.



35,41), terwijl ook de praemenstruele FSH stijging die o.a. door Ross et al (33) en Wide et al (41) werd beschreven, bij rangschikking van de waarden rond dag 1 van de menses duidelijk terug wordt gevonden (fig. 5-14). In de loop van de follikelfase heeft het FSH de neiging om te dalen; de luteale waarden liggen tot dag +9 lager dan in de follikelfase, zonder dat het tot significante verschillen komt (fig. 5-9).

5.4.3.3. Oestradiol.

In overeenstemming met de literatuur (1,5,24,29) is ook het verloop van de plasma-oestradiol spiegels. Vanaf het begin van de cyclus treedt een geleidelijke stijging van de plasma-oestradiol concentratie op, die versneld op lijkt te treden vanaf dag -4.

De maximale oestradiol concentraties worden op dag -1 gevonden, terwijl op dag +1 en +2 een vrij scherpe daling te zien is. Tussen dag +6 en +9 treedt opnieuw stijging van het plasma-oestradiol op; deze valt ongeveer samen met de hoogste uitscheiding van pregnaandiol in de urine (fig. 5-10).

5.4.3.4. Testosteron.

Het plasma-testosteron (fig. 5-11) blijkt in onze serie geen variatie van betekenis gedurende de cyclus te vertonen. Dit is ook te verwachten, omdat bij normale vrouwen zeker 60% van het plasma-testosteron wordt verkregen uit perifere omzetting van androsteendion (11,32), terwijl de ovariële secretie slechts 5 tot 20% van het plasma-testosteron bijdraagt (3,30).

5.4.3.5. Pregnaandiol.

De dagelijkse uitscheiding van pregnaandiol in de urine (fig. 5-12) komt eveneens goed overeen met de literatuur gegevens. Aanwijzingen voor log-normale verdeling van

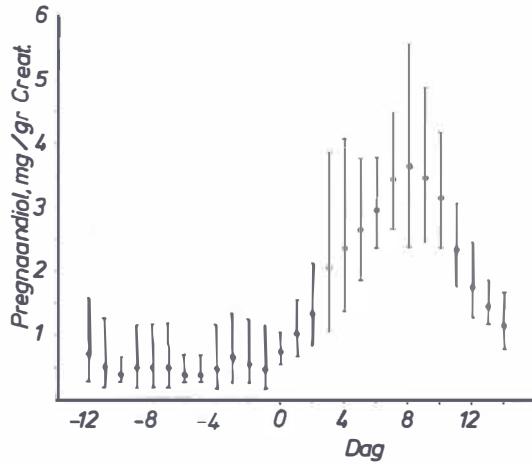


Fig.5-12 De gemiddelde waarden van de excretie van pregnaandiol in een cyclus van zes gezonde vrouwen.
Dag 0 is de dag van de hoogste gemeten LH waarde.
De punten geven de gemiddelde waarden aan, de verticale lijn hun 95% betrouwbaarheidsinterval.

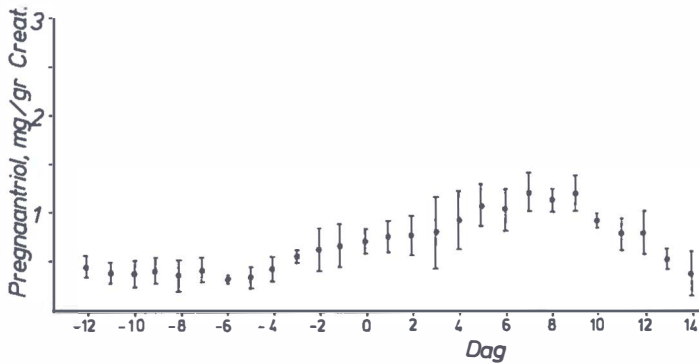


Fig.5-13 De gemiddelde waarden van de pregnaantriol excretie in een cyclus van zes gezonde vrouwen.
Dag 0 is de dag van de hoogste gemeten LH waarde.
De punten geven de gemiddelde waarden aan, de verticale lijn hun 95% betrouwbaarheidsinterval.

de pregnaandiol waarden in de cyclus, een gegeven waarvan bij de constructie van het 95% betrouwbaarheidsinterval werd uitgegaan, werden eveneens gevonden door Askalani et al (2). Deze auteurs vonden voor pregnaandiol in de follikelfase hetzelfde normaal bereik, echter gemeten in 24 uren urines, als ons laboratorium; in de luteale fase werd een grotere spreiding gevonden, die kan samenhangen met de wijze, waarop de proefpersonen werden geselecteerd; de gelijktijdig bepaalde progesteron spiegel in het plasma heeft namelijk eveneens een grotere spreiding dan elders in de literatuur wordt vermeld. Askalani et al vonden een zeer goede correlatie tussen pregnaandiol excretie en plasma-progesteron spiegel op dezelfde dag ($r = 0.82$).

Friedrich en Kemeter (9) bepaalden de pregnaandiol excretie in 24 uren urine met behulp van dunne laag chromatografie. Bij tien ovulatoire vrouwen werd om de dag de bepaling uitgevoerd, waarna waarden gevonden werden, die iets lager liggen dan onze serie. De bovengrens van de pregnaandiolexcretie in de follikelfase bedroeg 1 mg/24 uur, de ondergrens in de mid-luteale fase 2 mg/24 uur.

Het door Metcalf (26) berekende bereik van de pregnaandiol/creatinine ratio's in de gehele luteale fase bedraagt 3.22 ± 1.49 , hetgeen geheel overeenkomt met onze waarden.

Ook Sobota en Kirton (36) geven een 95% betrouwbaarheidsinterval voor de 24 uren waarden van pregnaandiol-excretie op dag 22 = mid-luteaal, dat met het onze overeen komt (2.6 tot 3.9 mg/24 uur), in zoverre dat het is berekend door het gemiddelde ± 2 SEM te nemen.

In de curve valt op, dat de pregnaandiol excretie op dag 0 al een geringe stijging te zien geeft. Dit hoeft echter, gezien de relatieve onzekerheid over het tijdstip waarop de ovulatie optreedt, geen fysiologische betekenis te hebben. Het klopt wél met de literatuur-

gegevens die aangeven dat al bij luteïnisatie van de granulosa de progesteron secretie op gang komt (zie 5.5.1.).

Direct daarna treedt een snelle stijging op tot dag +7 waarna de waarden enkele dagen op hetzelfde hoge niveau blijven. Deze periode valt samen met de tweede oestradiol piek in het plasma. Vanaf dag 10 treedt een daling van de pregnaandiolexcretie op. De menses beginnen echter op een pregnaandiol niveau, dat hoger is dan de in de proliferatiefase gevonden waarden.

5.4.3.6. Pregnaantriol.

Pregnaantriol is het voornaamste metaboliet van 17 hydroxyprogesteron, dat voor plm. 30% als pregnaantriol glucuronide in de urine verschijnt (10).

De voornaamste bron van 17 hydroxyprogesteron in de follikelfase van de cyclus is de bijnier, maar in de luteale fase is de bijdrage van het corpus luteum zo aanzienlijk, dat dan praktisch gesproken de directe secretie door dit corpus luteum verantwoordelijk is voor de plasma-hydroxyprogesteron spiegel (4).

Over de excretie van pregnaantriol gedurende de cyclus is duidelijk minder onderzoek verricht dan over die van pregnaandiol.

De door ons gevonden curve toont follikelfase waarden van 0.3 tot 0.6 mg/gr. creatinine (fig. 5-13). In tegenstelling tot de pregnaandiol excretie lijkt reeds op de dag waarop de maximale LH spiegel wordt gevonden een significante stijging van de pregnaantriol excretie op te treden, die doorgaat tot de negende dag van de luteale fase, waarna een zeer geleidelijke daling tot het niveau van de proliferatiefase plaatsvindt.

De curve komt kwalitatief goed overeen met die van Zamora et al (47), maar toont verschillen met die van Loraine en Bell (25) in zoverre, dat de door hun gepubliceerde curve in de luteale fase eerder zijn maximum

bereikt en eerder daalt dan de onze.

Het verloop van de 17 hydroxyprogesteron spiegels in het plasma is gepubliceerd door Strott et al (37), Ross et al (33) en Thorneycroft et al (39). De spiegel begint te stijgen op het moment dat de maximale prae-ovulatoire LH spiegels optreden en correleert met de maximale oestradiol synthese in de Graafse follikel (37) en de snelle ontwikkeling van de theca interna.

Aangenomen wordt (39) dat het geproduceerd wordt in de prae-ovulatoir geluteïniseerde theca- of granulosa-cellen. Onderzoek in vitro door Channing (8) leverde echter op, dat alleen de thecacellen tot hydroxyprogesteron synthese in staat zijn. In een later onderzoek toonden Thorneycroft et al (40) aan, dat de plasma-oestradiol spiegels reeds vóór het begin van de hydroxyprogesteron stijging maximaal waren en dat de hydroxyprogesteron stijging exact samenviel met de LH piek.

Men mag dan ook aannemen, dat de hydroxyprogesteron spiegels en de pregnaandiol excretie een maat zijn voor de luteïnisatie van de thecacellen en voor de activiteit van de theca-luteïne-cellen in het corpus luteum.

5.5. *Beschouwing*

Met de gevonden waarden wordt het mogelijk de hormonale veranderingen tijdens de menstruele cyclus te beschrijven en aan de gegevens uit de literatuur te toetsen (1,18,23,29,33,37,46).

Kort vóór de menses treedt een betrekkelijk scherpe daling op van het plasma-oestradiol, en een mogelijk iets minder sterke daling van de pregnaandiol excretie, een maat voor het plasma-progesteron.

Praemenstrueel begint het FSH te stijgen, een stijging die de eerste dagen van de nieuwe cyclus nog doorzet.

Ook het LH stijgt, maar relatief minder dan het FSH. Bij het stijgen van de plasma-oestradiol concentratie daalt het FSH, terwijl het LH in ieder geval niet daalt en zeker prae-ovulatoir (vanaf dag -4) neiging tot stijgen vertoont. De excretie van pregnaandiol en -triol is in deze cyclusfase laag. Nadat de maximale oestradiol concentratie is bereikt, treedt de LH-piek op (17,18,29, 34,38,39,40), die tenminste 24 uur aanhoudt (19,27). Tijdens de toename van het LH in deze periode begint de 17 hydroxyprogesteron spiegel en daarmee de pregnaandiol excretie te stijgen (37,40).

Over het plasma-progesteron (en de pregnaandiol excretie) in de peri-ovulatoire periode bestaat geen overeenstemming. Volgens sommige auteurs (1,13,29,33) stijgt de plasma-progesteron spiegel significant tijdens het optreden van de LH piek, volgens anderen (31,46) begint deze stijging pas 24-48 uur na de piek.

Infusie met progesteron, waarbij de plasmaspiegel van dit hormoon 1 ng/ml werd verhoogde, voerde binnen 6-12 uur tot een sterke afgifte van LH en FSH (24), mits voldoende hoge oestradiol spiegels aanwezig zijn (22).

Verondersteld wordt, dat, daar progesteron stijging in ieder geval pas na de initiatie van de LH piek werd aangetoond, dit hormoon dient als een secundair signaal om de mid-cyclus LH piek te continueren, terwijl oestradiol zelf de initiator van deze LH afgifte is (14, 20,21).

Postovulatoir ontwikkelt zich het corpus luteum, dat plm. zeven dagen na de ovulatie zijn maximale activiteit ontplooit. Vanaf de zevende dag tot de tiende dag postovulatoir worden hoge waarden voor oestradiol, plasma-progesteron (pregnaandiol) en 17 hydroxyprogesteron (pregnaantriol) gevonden. Na de tiende dag vindt bij uitblijvende conceptie een geleidelijke daling plaats, waarna de menses volgen.

De gemiddelde waarden, die voor LH en FSH in de luteale fase gevonden werden, zijn in het algemeen lager dan in

de proliferatiefase, maar met name het LH vertoont in de luteale fase pulsvormige elevaties, die echter langzamer verlopen dan in de proliferatiefase (8,13,14,27,43,44) en die gemakkelijk gemist kunnen worden bij een weinig frequente afname van bloedmonsters.

De vraag, waarom de luteale activiteit bij uitblijven van conceptie na de tiende dag postovulatoir achteruit gaat, en waarom het na veertien dagen tot menstruatie komt, is bij de mens niet opgehelderd.

Literatuur

1. Abraham G.E., Odell E.D., Swerdloff R.S., Hopper K., J.Clin.Endocrinol.Metab. 34:312, 1972.
2. Askalani H., Smuk M., Sugar J., Delvoye P., Robijn C., Schwerts J., Am.J.Obstet.Gynecol. 118:1054, 1974.
3. Bardin C.W., Hembree W.C., Lipsett M.B., J.Clin. Endocrinol.Metab. 28:1300, 1968.
4. Baird D.T., Europ.J.Obstet.Gynecol.Reprod.Biol. 4:31, 1974.
5. Baird D.T., Guevara A., J.Clin.Endocrinol.Metab. 29:149, 1969.
6. Bliss C.I. In:"Statistics in Biology", vol.I, McCraw-Hill, New York, 1967, pp.101-107.
7. Bliss C.I., ibidem, pp.108-110.
8. Channing C.P., J.Endocrinol. 45:297, 1969.
9. Friedrich F., Kemeter P., Wien.Klin.Wschr. 85:362, 1973.
10. Fukushima D.K., Bradlow H.L., Hellman L., Gallagher T.F. In:"The human adrenal cortex". (A.R. Currie, T. Symington, J.K. Grant eds.). Livingstone Edinburgh, 1962. p. 371.
11. Horton R., Tait J.F., J.Clin.Invest. 45:301, 1966.
12. Ipsen J., Jerne N.K., Acta Pathol. 21:343, 1944.
13. Johansson E.D.B., Wide L., Acta Endocrinol.Kbh. 62:82, 1969.
14. Karsch F.J., Knobil E., Weick R.F., Dierschke D.J., Butter W.K., Hotchkiss J., Endocrinology 93:1140, 1973.
15. Kletzky O.A., Davajan V., Nakamura R.M., Thorneycroft I.H., Mishell D.R., Am.J.Obstet.Gynecol. 121: 688, 1975.
16. Kletzky D.A., Davajan V., Nakamura R.M., Mishell

- D.R., J.Clin.Endocrinol.Metab. 41:660, 1975.
17. Kohler P.O., Ross G.T., Odell W.D., J.Clin.Invest. 47:661, 1968.
 18. Korenman S.G., Sherman B.M., J.Clin.Endocrinol. Metab. 36:1205, 1973.
 19. Kulin H.E., Bell P.M., Santen R.T., Ferber A.T., J.Clin.Endocrinol.Metab. 40:783, 1975.
 20. Lal S., Martin J.B., Friesen H.G., Clin.Res. 21: 1027, 1972.
 21. Lasley B.L., Wang C.F., Yen S.S.C., J.Clin.Endo-
crinol.Metab. 41:82, 1975.
 22. Leyendecker G., Hinckers K., Nocke W., Plotz E.J., Arch.Gynäkol. 218:47, 1975.
 23. Leyendecker G., Nocke W., Acta Endocrinol.Kbh.
suppl. 177:17, 1973.
 24. Linden G.H.M. van der, in: "Oestradiol, ovariumfunc-
tie en mammacarcinoom". Proefschrift Groningen,
1973, p. 34.
 25. Loraine J.A., Bell E.T., Obstet.Gynecol.Surv. 22:
463, 1967.
 26. Metcalf M., Am.J.Obstet.Gynecol. 117:1041, 1973.
 27. Midgley A.R., Jaffe R.B., J.Clin.Endocrinol.Metab.
28:1699, 1968.
 28. Midgley A.R., Jaffe R.B., J.Clin.Endocrinol.Metab.
33:962, 1971.
 29. Moghissi K.S., Syner F.N., Evans T.N., Am.J.Obstet.
Gynecol. 114:405, 1972.
 30. Mikhail G., Gynecol.Invest. I:5, 1970.
 31. Mishell D.R., Nakamura R.M., Crosignani P.G., Stone
S., Kharmal K., Nagala Y., Thorneycroft I.H., Am.
J.Obstet.Gynecol. 111:60, 1971.
 32. Rivarola M.A., Saez J.M., Meyer W.J., Jenkins M.E.,
Migeon C.J., J.Clin.Endocrinol.Metab. 26:1208, 1966.
 33. Ross G.T., Cargille C.M., Lipsett M.B., Rayford
R.L., Marshall J.R., Strott C.S., Rodbard D., Rec.
Progr.Horm.Res. 21:1, 1970.

34. Santen R.J., Bardin C.W., J.Clin.Invest. 52:2617, 1973.
35. Saxena B.B., Leyendecker G., Chen W., Gandy H.M., Peterson R.E. In:"Immuno assay of gonadotropins". (E. Diczfalusy ed.). Stockholm, 1969, p. 185.
36. Sobota J.T., Kirton K.T., Obstet.Gynecol. 35:752, 1970.
37. Strott C.A., Yoshimi T., Ross G.T., Lipsett M.B., J.Clin.Endocrinol.Metab. 29:1157, 1969.
38. Taymor M.L., Aono T., Pheteplace C., Acta Endocrinol.Kbh. 59:298, 1968.
39. Thorneycroft I.H., Mishell D.R., Stone S.C., Kharma K.M., Nakamura R.M., Am.J.Obstet.Gynecol. 111:947, 1971.
40. Thorneycroft I.H., Sribyalta B., Tom W.K., Nakamura R.M., Mishell D.R., J.Clin.Endocrinol.Metab. 39: 754, 1974.
41. Wide L., Nillius S.J., Gemzell C., Roos R., Acta Endocrinol.Kbh. suppl. 174:1, 1973.
42. Wissenschaftliche Tabellen, 7e druk (K.Diem, C. Lentner eds.). J.R. Geigy, Basel, 1968. p. 54.
43. Yen S.S.C., Tsai C.C., J.Clin.Endocrinol.Metab. 33:882, 1971.
44. Yen S.S.C., Tsai C.C., Vandenberg G., Rebar R., J.Clin.Endocrinol.Metab. 34:671, 1972.
45. Yen S.S.C., Vandenberg G., Tsai C.C., Parker D.C. In:"Biorhythms and Human Reproduction". (M. Ferin, F. Halberg, R.M. Richart, R.L. VandeWiele eds.). Wiley, New York, 1974, p. 203.
46. Yen S.S.C., Vela P., Rankin J., Littel A.S., JAMA 211:1513, 1970.
47. Zamora E., Plattner D., Curtius H.Ch., Acta Endocrinol.Kbh. 62:315, 1969.

VI

Patiëntenonderzoek: selectie en indeling in groepen

6.1.1. Herkomst van de patiënten.

De door ovulatiestoornissen veroorzaakte infertiliteit is een teken van gestoorde verhoudingen in het hypothalamo-hypofyseo-ovariële regelmechanisme. Niet zelden wordt een behandeling met succes bekroond, zonder dat duidelijk werd welke stoornis de anovulatie veroorzaakte.

Omdat 26 van de 40 te bespreken patiënten al tevergeefs met clomipheen waren behandeld, is een negatieve selectie opgetreden. Vermoedelijk zijn de resultaten bij deze groep patiënten daardoor slechter dan in andere in de literatuur genoemde series.

De patiënten kwamen voor het grootste deel uit de drie Noordelijke provincies en Noord- en Oost-Overijssel en maar voor een klein deel uit de directe omgeving van Groningen (14 patiënten). De vaak grote reisafstanden maakten het hun niet altijd mogelijk om frequente controles te ondergaan, zodat nogal eens fragmentarische gegevens werden verkregen. Dit bemoeilijkte de interpretatie van de behandelingsresultaten. Doordat meestal wel een serie bepalingen van de pregnaandiol- en pregnaantriol excretie beschikbaar was kon mede aan de hand van de basale temperatuurcurve worden gecontroleerd, of ovulatie was opgetreden.

6.1.2. Oriënterend onderzoek.

Vóór met de diagnostiek van de anovulatie werd begonnen,

onderging elke patiënt poliklinisch een oriënterend onderzoek ter uitsluiting van algemene ziekten en van stoornissen in het overig endocrinium.

Dit onderzoek bestond uit een uitvoerige anamnese, waarbij ook aandacht werd geschonken aan in de familie voorkomende menstruatie- en vruchtbaarheidsstoornissen, aan de sociale omstandigheden en aan de voedingsgewoonten. De voedingsanamnese werd afgenomen door de diëtistes van het Academisch Ziekenhuis te Groningen.

Het uitvoerig fysisch-diagnostisch onderzoek werd steeds aangevuld door een consult van de polikliniek Oorheelkunde (Hoofd Prof. Dr. N.M.J. Schweitzer) ter uitsluiting van door N. opticus compressie en/of door verhoogde intracraniële druk veroorzaakte visusstoornissen, zoals die bij hypofyse- of hersenstamtumoren kunnen voorkomen.

Het lichamelijk onderzoek werd aangevuld met de volgende laboratoriumbepalingen:

1. een volledig bloedbeeld met bepaling van het haemoglobinegehalte, de haematocriet, het aantal erythrocyten en thrombocyten per mm^3 , een differentiatie van het witte bloedbeeld en een BSE.
2. de bloedchemie met bepaling van serum-electrolyten, calcium en fosfaat, leverfuncties met SGOT, SGPT en LDH, nierfuncties: ureum en creatinine; albumine/globuline gehalte van het serum, cholesterol gehalte.
3. eenvoudig urine-onderzoek met kwalitatieve bepaling van eiwit en glucose en beoordeling van het sediment.
4. een orale glucosetolerantietest (GTT) ter uitsluiting van diabetes mellitus (50 g. glucose).
5. een screening van de schildklierfunctie, bestaande uit een bepaling van het serum-thyroxine en van de " T_3 -harsopname" (Triosorb®), waaruit de vrije thyroxine index werd bepaald (5).
6. een dwarse röntgenopname van de schedel ter bepaling van de grootte van de sella turcica.

7. bepaling van het randchromatine in orale en vaginale preparaten, teneinde chromosomaal mozaïcisme op het spoor te komen. Wanneer in het vaginale preparaat minder dan 25 Barr bodies per 100 cellen werden waargenomen, werd de betreffende patiënt verwezen naar het laboratorium voor Anthropogenetica (Hoofd Prof. Dr. G.J.P.A. Anders), waar een herhaling van het randchromatine onderzoek plaatsvond. Op indicatie werd dan een chromosomale analyse van leukocyten in veneus bloed verricht. Chromosomaal mozaïcisme werd op deze wijze zoveel mogelijk uitgesloten.
8. Patiënten met hypertensie en een voornamelijk op de romp gelocaliseerde vetverdeling waarbij verdenking bestond op het bestaan van het syndroom van Cushing, ondergingen uitgebreider onderzoek naar de bijnierfunctie. Daartoe werd de aanwezigheid van het dagritme van het plasma-cortisol gecontroleerd en werd een korte bijniersuppressietest met 1 mg. Dexamethason (9) verricht. In dit verband is het nuttig om reeds op te merken, dat de gemeten excretie van 17 keto- en 17 hydroxysteroiden in de urine steeds werd gerekteerd aan de creatinine uitscheiding.

Een bepaling van het plasma-prolactine was niet beschikbaar in de periode waarin dit onderzoek werd verricht. Pas sinds januari 1976 is een routinescreening op de aanwezigheid van hyperprolactinaemie in het oriënterend onderzoek opgenomen.

Wanneer bij de oriëntatie bleek dat de menstruatiestoornis secundair kon zijn aan een afwijking buiten de hypothalamo-hypofyseo-gonadale as, volgde verwijzing naar de internist. Vier patiënten waarbij een dergelijke stoornis gevonden werd werden niet in het onderzoek opgenomen.

Bij de patiënten met vaginaal bloedverlies werd anovulatie vastgesteld op grond van histologisch onderzoek van een op de eerste dag van een bloeding genomen endome-

triumbiopsie, waarin proliferatief endometrium diende te worden gezien.

Een indruk over de hormonale verhoudingen in het regelmechanisme van de ovariële activiteit werd verkregen door twee à drie keer met een interval van een week de plasmaspiegels van oestradiol, LH en FSH te bepalen, waarbij op dezelfde dag de pregnaandiol- en -triol excretie en die van de 17 ketosteroiden, androsteron, etiocholanolon en DHEA werd bepaald.

Bij patiënten met hirsutisme, waaronder de aanwezigheid van een mannelijk geslachtsbehavioringspatroon wordt verstaan, werd ook het plasma-testosteron gemeten.

Wanneer bij amenorrhoe lage plasma-oestradiol spiegels bij herhaling samengingen met hoge FSH spiegels werd laparoscopisch een ovariumbiopsie genomen die histologisch werd onderzocht op de aanwezigheid van stimuleerbare follikels (Laboratorium voor Pathologische Anatomie, Hoofd Prof. Dr.Ph.J. Hoedemaeker). Wanneer in een representatief biopt geen follikels werden aangetoond, werd aangenomen dat ovulatie-inductie niet meer mogelijk was en werd, eventuele oestrogene substitutie daargelaten, afgezien van therapie.

6.2. Onderzoek van de hypothalamo-ovariële as

6.2.1. Progesteron belastingstest (PBT).

In alle gevallen van secundaire amenorrhoe of oligomenorrhoe zonder hoog FSH werd een belastingstest met progesteron verricht, zoals beschreven bij Goldenberg et al (1), waarbij gedurende twee dagen vóór en vier dagen na intramusculaire toediening van 75 mg. progesteron in olie dagelijks het serum-LH wordt bepaald. In overeenstemming met deze auteurs werd van een "com-

plete respons" gesproken, als behalve een vier à vijf dagen na de injectie optredende onttrekkingsbloeding een - vaak sterke - stijging van het LH één tot drie dagen na de injectie werd waargenomen, die gevolgd werd door een daling. Van een "incomplete respons" werd gesproken, als wel een duidelijke LH reactie, maar geen bloeding optrad.

Onder een negatieve reactie werd verstaan, dat noch een LH stijging, noch een bloeding werd waargenomen.

6.2.2. Dexamethason/HCG test.

Bij patiënten met hirsutisme werd in het eerste jaar van het onderzoek een dexamethason suppressie/HCG stimulatie test (DXM/HCG test) uitgevoerd, althans wanneer de uitslag van de korte DXM-suppressie test het syndroom van Cushing uitsloot.

De test was een modificatie van de door Jayle et al (2) aangegeven procedure en bestond uit toediening van 0.5 mg. dexamethason (DXM) per 10 kg. lichaamsgewicht, over vier dagelijkse doses verdeeld, gedurende zeven dagen. Op de vijfde, zesde en zevende dag werden tevens 4500 IE HCG intramusculair toegediend.

Gedurende de hele testperiode werd dagelijks urine verzameld voor de bepaling van de 17 keto- en 17 hydroxysteroid excretie; de uitgangswaarden werden verkregen uit de twee 24 uren urines die vóór de DXM toediening werden verzameld. De mate van ACTH suppressie werd beoordeeld aan de hand van de excretie van 17 hydroxysteroiden. Het plasma-testosteron werd bepaald vóór de dexamethason toediening, na vier dagen bijniersuppressie en op de zevende dag van de test.

6.2.3. Laparoscopie en ovariumbiopsie; tubadoorganekelijkheid.

In vele gevallen werd een diagnostische laparoscopie met ovariumbiopsie verricht. Dit gebeurde als regel

vóór de DXM/HCG test en ook wanneer tevoren ingrepen aan de genitalia interna hadden plaatsgevonden of wanneer op grond van anamnese en onderzoek vermoedens over tuba-pathologie waren gerezen. Bij de twee laatst genoemde indicaties werd de nadruk gelegd op het onderzoek naar de toe- en doorgankelijkheid van de tubae. Deze werd beproefd door de kleurstof indigokarmijn via een aan de cervix bevestigde canule in uterusholte en tubae te spuiten. In sommige gevallen werd ook een ovariumbiopsie genomen. Laparoscopie gebeurde in het algemeen ook, wanneer na drie ovulatie-inducties wél ovulatie, maar geen conceptie was opgetreden en wanneer bij gynaecologisch onderzoek meermalen vergrote ovaria waren gevoeld. Om te voorkomen, dat door clomipheen stimulatie ontstane cysten het beeld zouden vertroebelen, werd de ingreep steeds op zijn minst drie maanden na de laatste clomipheen kuur verricht.

6.2.4. Toediening van clomipheen.

Wanneer de eerder genoemde onderzoeken geen afwijkingen buiten de hypothalamo-gonadale as aan het licht hadden gebracht, werd, aanvankelijk onafhankelijk van het resultaat van de progesteron belastingstest, later alleen wanneer tenminste een "partiële respons" na progesteron toediening was opgetreden, een proefbehandeling met clomipheen gegeven.

De hoeveelheid te geven clomipheen werd bepaald aan de hand van de gemiddelde plasma-oestradiol spiegels; waren deze lager dan 100 pg/ml., dan werd gedurende vijf dagen 50 mg. per dag toegediend, bij hogere spiegels steeds 100 mg per dag gedurende vijf dagen.

Een week tevoren werd progesteron toegediend, zodat (bij complete respons) op de tweede of derde dag van de vaginale bloeding de clomipheen test begon. Tijdens het gebruik van de clomipheen medicatie werden dagelijks LH, FSH en oestradiol bepaald; bij patiënten die

niet in Groningen woonden, gebeurde dit indien mogelijk om de dag. De tweede week van de test werden de serum- en plasma-hormonen om de dag bepaald, of zo vaak als voor de patiënt mogelijk was. Vanaf het begin van de test werd de basale temperatuurcurve bijgehouden en werd een zo frequent mogelijke bepaling van de excretie van pregnaandiol en -triol uitgevoerd tot ongeveer 14 dagen na de sprong op de temperatuurcurve of tot het optreden van vaginaal bloedverlies.

Tenminste één maal per week vond poliklinische controle plaats, waarbij tijdens het gynaecologisch onderzoek aandacht werd geschonken aan de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm en aan de grootte en consistentie van de ovaria.

Wanneer een goede stijging van het plasma-oestradiol met eventueel een ovulatoire reactie werd verkregen en er geen kinderwens was, werd afgezien van medicamenteuze therapie en bleef het vooralsnog bij deze diagnostische procedure. Poliklinische controle vond hierna eens per drie tot zes maanden plaats.

Bij kinderwens werd, wanneer een ovulatoire reactie was opgetreden, de behandeling met dezelfde clomipheen dosering voortgezet. Vrijwel steeds werd tussen de verschillende kuren een pauze van ongeveer zes weken ingelast. Wanneer uit de laboratorium uitslagen bleek, dat met de gebruikelijke dosering van 50 of 100 mg. gedurende vijf dagen onvoldoende reactie was opgetreden, werd de clomipheen dosering verhoogd. Vanaf najaar 1974 werd dan in de kuur een geleidelijk stijgende hoeveelheid van het medicament toegediend, meestal in de eerste twee dagen 50 mg. per dag, gevolgd door gedurende twee dagen 100 mg. per dag en op de vijfde dag 150 mg. In sommige gevallen werd een dergelijk schema begonnen met 100 mg. clomipheen per dag.

Tabel VI-1.

Klinische gegevens van de geselecteerde patiënten.

	nummer	initialen	leeftijd bij eerste bezoek	kinderwens sinds . . . jaar	pariteit (* = door of na clomipheen)	elders clomipheen + = ja; - = nee	BTC 1 = mono; 2 = af en toe bifasisch; 3 = n.t.b.	endom. biopsie 1 = prolif.; 2 = secret. 3 = E.gl.cyst.; 4 = E.M.	progesteronbelastingtest 1 = neg.; 2 = incompl. resp.; 3 = compl. respons	lengte cm	gewicht kg	adipositas + ondergewicht -	hirsutisme 1 = gering; 2 = matig; 3 = ernstig	hysterogram 1 = normaal 2 = afwijkend	opmerkingen
Groep A	Bloedingsfrequentie groter dan een keer/8 weken. (adipositas)														
	a-1	DoBo	27	3	1☆	-	2	3		172	74,5	+			
	(hirsutisme en adipositas)														
	a-2	MoBo	30	2	1☆	-	2	3		161	70,8	+	1		
	a-3	OoNie	29	3	1☆	-	2	2		155	59,3	+	1		
	a-4	TeFe	28	5	1	-	2	2		174	79,5	+	1		semen fertiel na variocèleoperatie in 3e jaar huwelijk, daarna twee jaar ongewenst kinderloos
Groep B	Oligomenorrhoe														
	b-1	AtKr	27	3	1☆	+	1	1	3	161	52,4				
	b-2	SwWy	24	2	0	+	1	1	3	166	60				
	b-3	ZoWe	30	4	0	+	1	2	3	160	69,3				
	b-4	JoFe	29	8	0	+	2	3	3	176	51,5	-		1	
	b-5	KrGr	24	5	0	+	1	1	3	160	53,2				
	b-6	MuBo	25	2	0	-	1	1	3	170	61,3			1	
	(adipositas)														
	b-7	SchBr	29	5	0	+	1	1	3	176	82	+		1	
	(hirsutisme)														
	b-8	BoTe	22	2	0	-	1	2	3	162	60		3		
	(hirsutisme en adipositas)														
	b-9	HeDe	29	5	0	+	1	1	3	169	73,2	+	1		
	b-10	NiLu	26	4	0	+	1	2	3	160	73,7	+	1	2☆	☆ rechter tuba niet doorgankelijk

Groep C	Extreme oligomenorrhoe												
	c-1	MoVo	27	5	0	+	1	—	2	175	72,2		
	c-2	SIDr	23	3	0	—	1	2	3	167	59,1		
	(adipositas)												
	c-3	RoKa	27	5	0	+	2		3	162	69,3	+	
	c-4	ViKa	23	1	0	+	1		3	168	72	+	
	c-5	VrDu	23	2	0	—	1	2	3	153	64,2	+	
	c-6	VrHi	24	3	0	+	1	2	2	166	72,5	+	
	(hirsutisme)												
	c-7	FoMe	27	2	0	+	1	1	3	161	58,1		1
Groep D-1	c-8	HeYa	27	4	0	+	1	2	3	167	66		1
	(hirsutisme en adipositas)												
	c-9	Tukö	24	4	0	—	1	2	3	163	72,4	+	3☆
	duur s.a.												
	☆ uterus bicornis, semen fertiel na varicocèle operatie, daarna twee jaar ongewenst kinderloos												
Groep d-2	Secundaire amenorrhoe na regulaire cyclus												
	d.1-1	AlSm	21	1	1	0	—	1	1☆	173	52,3	—	☆
	d.1-2	DyJo	21	3	1	0	+	1	1☆	161	48,2	—	☆
	d.1-3	LaJo	23	3	3	0	+	1	2	176	52,9	—	
	d.1-4	WyLa	27	2	1	1☆	—	1	3	169	56,8		
	(adipositas)												
Groep d-2	d.1-5	VeBo	24	3	2	1☆	+	1	3	167	83,5	+	1
	Secundaire amenorrhoe na irregulaire cyclus												
	d.2-1	HeKn	25	4	2	0	+	1	2	163	57,2		1
	d.2-2	VoRi	19	2	1	0	+	1	1	3	164	60	1
	d.2-3	EiDo	28	10	8	0	+	1	2	170	71		
	(adipositas)												
	d.2-4	WyUb	24	8	1	0	+	1	3	158	66,5	+	
Groep E-1	(hirsutisme)												
	d.2-5	SchFo	22	2	2	0	+	1	1	3	163	61,2	2
	(hirsutisme en adipositas)												
	d.2-6	PiHu	20	6	1	0	+	1	2	3	154	78,7	+
Groep E-1	Post pil amenorrhoe na regulaire cyclus												
	e.1-1	BoBr	23	2	2	0	+	1	2	172	59,6		
	e.1-2	GrHe	27	2	2	0	+	1	"3"☆	168	53,2		☆
	e.1-3	JeNi	25	2	1	0	+	1	2	179	66,7		
	e.1-4	KINy	22	1	2	0	—	1	1☆	177	53,2	—	☆
	e.1-5	MeWy	28	1	1	2	—	1	3	168	61,5		
Groep E-2	Post pil amenorrhoe na irregulaire cyclus												
	e.2-1	VrMe	22	1	1	1	—	1	3	165	60,5		

6.3. Selectie

6.3.1. Noodzakelijke voorwaarden voor opname in de onderzoeksgroep.

Zoals reeds vermeld, vormen de patiënten die van 1 mei 1973 tot 1 mei 1975 met clomipheen behandeld werden het onderwerp van deze studie.

Alleen diegenen, die uitsluitend stoornissen in de hypothalamo-hypofyseo-ovariële regulatie bleken te vertonen, kinderwens hadden, gedurende tenminste één cyclus nauwkeurige diagnostiek hadden ondergaan en bij wie een normaal resultaat van de semenanalyse van echtgenoot of partner was gevonden werden in de studie opgenomen. Veertig patiënten voldeden aan deze criteria.

6.3.2. Definities van klinische kenmerken, verdeling in groepen.

De klinische gegevens van de in het onderzoek opgenomen patiënten staan vermeld in tabel VI-1. Gezien de symptomatologie is het moeilijk de patiënten in groepen in te delen en de in de tabel gegeven indeling kwam dan ook tot stand op grond van arbitraire maatstaven. Deze werden geput uit de resultaten van het lichamelijk onderzoek en van de anamnese. Wat deze laatste betreft werd primair gelet op het interval tussen de bloedingen. Onderscheid werd gemaakt tussen patiënten met secundaire amenorrhoe, die in afwijking van de gangbare definities in dit onderzoek geacht werd te bestaan wanneer tenminste een jaar lang geen vaginaal bloedverlies was opgetreden, en patiënten die nog wél in hogere of lagere frequentie vloeiden. Deze laatste groep werd in drie categorieën onderverdeeld, namelijk één met een bloedingsfrequentie groter dan één keer per

acht weken (groep A), een categorie met oligomenorrhoe, waarbij dit verschijnsel in het kader van dit proefschrift werd gedefiniëerd als vaginaal bloedverlies met een interval van tenminste acht weken en ten hoogste vier maanden (groep B) en een categorie met extreme oligomenorrhoe, waarbij minder dan drie maal per jaar, maar tenminste één maal per jaar vaginale bloedingen optraden (groep C).

De patiënten met secundaire amenorrhoe werden ondergebracht in twee groepen, één met een "spontaan" begin van de secundaire amenorrhoe (groep D) en één waarbij de secundaire amenorrhoe was ontstaan na het staken van hormonale contraceptie (groep E). In de secundaire amenorrhoe groepen werd verder onderscheid gemaakt naar regulariteit (D^I en E^I) en irregulariteit (D^{II} en E^{II}) van de cyclus vóór het ontstaan van de amenorrhoe, vanaf een jaar na de menarche. Onder irregulariteit werd een verschil in duur van de intervallen van tenminste een week verstaan. Bij de groepen A tot en met C bleek dit onderscheid zinloos, omdat slechts één patiënt in groep A (a-3) vanaf dit tijdstip regulair vaginaal bloedverlies had gehad, dat pas veel later minder regelmatig en minder frequent werd.

Hirsutisme werd arbitrair in drie graden van ernst onderscheiden, waarbij een oplopende bovengrens van de pubisbehairing, die bij een groot aantal patiënten met menstruatiestoornissen wordt gevonden, niet als hirsutisme werd geïdentificeerd. Voor de lichte vorm van hirsutisme diende behalve de bovengenoemde (mannelijke) vorm van pubisbehairing bovendien een duidelijke behairing van de bovenlip aanwezig te zijn. Matig hirsutisme werd geacht te bestaan wanneer ook de kin behaard was; bij ernstig hirsutisme was het beharingspatroon volledig mannelijk. Om te beoordelen of adipositas of ondergewicht aanwezig was, werd gebruik gemaakt van tabellen (11). Bij meer dan 10% overgewicht werd aangenomen, dat adipositas

Tabel VI-2.

Laboratoriumgegevens.

Patienten		17 ketosteroiden excretie (5-15 mg/1.5 gr. creat.)	serum, LH hoogste en laagste (7-40 mE/ml)	serum FSH, hoogste en laagste (3-11 mE/ml)	oestradiol gemiddelde (pg/ml)	testosteron, hoogste en laagste (40-95 ng/100 ml)	Sims-Hühner; 1 = neg.; 2 = pos.; spermat. +; 3 = progressief bewegelijke spermatozoën
a-1	Do-Bo	<u>15.2</u>	10.2 - 16.8	3.1 - 4.2	152		
a-2	Mo-Bo	12.2	24.8 - 30.1	3.1 - 5.8	106	91 - 112	
a-3	Oo-Nie	<u>12.1</u>	28.6 - 31.7	4.1 - 6.2	107	72 - 90	
a-4	Te-Fe	15.3	28.9 - 41.6	2.3 - 3.3	160	92 - 98	3
b-1	At-Kr	18.6	21.6 - 38.2	1.8 - 6.0	202		
b-2	Sw-Wy	<u>16.1</u>	36.6 - 77.2	2.1 - 6.8	126		2
b-3	Zo-We	<u>11.0</u>	32.5 - 39.5	2.8 - 4.9	208		3
b-4	Jo-Fe	10.4	16.9 - 33.9	1.5 - 3.9	177		3
b-5	Kr-Gr	11.9	33.3 - 48.2	2.1 - 3.7	155		
b-6	Mu-Bo	<u>15.4</u>	34.4 - 58.9	6.9 - 10.5	171		
b-7	Sch-Br	<u>12.0</u>	33.8 - 34.1	3.9 - 6.1	112		3
b-8	Bo-Te	<u>11.6</u>	28.2 - 59.7	2.7 - 4.8	91	126 - 190	2
b-9	He-De	<u>13.0</u>	39.9 - 41.8	1.7 - 2.8	142	74 - 94	3
b-10	Ni-Lu	<u>16.2</u>	15.0 - 85.1	0 - 6.9	171	68 - 89	2
c-1	Mo-Vo	9.6	39.2 - 41.8	6 - 9.7	114		
c-2	Sl-Dr	<u>9.9</u>	31.0 - 65.2	9.6 - 12.7	100		
c-3	Ro-Ka	<u>13.7</u>	31.8 - 75.2	2.5 - 4.8	83		2
c-4	Vi-Ka	<u>17.1</u>	61.0 - > 100	0 - 4.3	81		
c-5	Vr-Du	15.6	42.3 - 61.7	2.7 - 4.1	99		
c-6	Vr-Hi	<u>19.4</u>	41.7 - 50.2	3.1 - 7.1	97	75 - 90	
c-7	Fo-Me	<u>13.9</u>	31.5 - 44.1	0.8 - 1.2	62	92 - 126	
c-8	He-Ya	11.6	24.0 - 40.9	1.0 - 8.3	165	106 - 127	
c-9	Tu-Kö	<u>19.6</u>	72.4 - 97.8	3.7 - 7.1	82	92 - 121	2

d.1-1	Al-Sm	<u>5.2</u>	0 - 6.0	4.2 - 7.7	56		
d.1-2	Dy-Jo	9.1	0 - 3.1	5.2 - 8.1	93		
d.1-3	La-Jo	8.8	3 - 5.1	6.7 - 10.4	81		
d.1-4	Wy-La	<u>10.6</u>	7.3 - 16.2	3.5 - 3.9	119		
d.1-5	Ve-Bo	13.2	18.6 - 29.4	4.2 - 6.1	94		
d.2-1	He-Kn	11.2	10.6 - 20.2	4.7 - 6.1	98		
d.2-2	Vo-Ri	18.0	42.7 - 51.6	4.9 - 7.2	90		
d.2-3	Ei-Do	<u>19.5</u>	4.7 - 12.6	2.1 - 3.3	104		
d.2-4	Wy-Ub	<u>13.8</u>	16.0 - 33.7	3.5 - 8.2	141		2
d.2-5	Sch-Fo	<u>15.4</u>	29.2 - 48.6	2.9 - 4.1	109	91 - 97	
d.2-6	Pi-Hu	<u>19.4</u>	13.8 - 17.4	0 - 1.3	133	116 - 146	3
e.1-1	Bo-Br	<u>9.8</u>	13.2 - 25	3.1 - 6.3	68		
e.1-2	Gr-He	<u>8.0</u>	5.0 - 7.2	3.1 - 4.7	108		3
e.1-3	Je-Ni	<u>7.5</u>	11.9 - 12.6	3.0 - 3.6	64		
e.1-4	Kl-Ny	<u>9.1</u>	0 - 4.4	1.7 - 2.2	60		
e.1-5	Me-Wy	8.2	24.6 - 29.0	4.2 - 9.2	83		
e.2-1	Vr-Me	16.2	11.8 - 16.2	3.1 - 4.6	86		

bestond; ondergewicht werd vastgesteld, wanneer het gewicht tenminste 10% lager was dan het ideaal gewicht.

6.3.3. Classificatie van de laboratorium waarden.

De laboratoriumgegevens van de 40 patiënten, die betrekking hebben op de gonadale functie, staan vermeld in tabel VI-2.

Voor de gonadotropinen in het serum en voor het plasma-oestradiol en -testosteron werden in het vorige hoofdstuk de "95% betrouwbaarheidsintervallen" aan de hand van gegevens uit cycli van normaal fertiele vrouwen berekend.

Om de bij de patiënten gevonden LH en FSH waarden te kunnen interpreteren werden de laagste en de hoogste waarden van de verschillende hormonen die tot dag -3 in de follikelfase bij de zes referentie cycli mochten worden verwacht als onder- en bovengrens aangehouden.

Voor de excretie van 17 ketosteroiden werd uitgegaan van de normale waarden zoals gegeven door het Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium van het A.Z.G. (Hoofd Dr. A. Groen).

De bij de patiënten gevonden waarde werd gecorrigeerd door deze te berekenen per 2 gram per 24 uur uitgescheiden creatinine (8).

Omdat niet bij alle patiënten meer dan een bepaling van de 17 ketosteroid excretie werd gedaan, wordt slechts één waarde vermeld. Wanneer deze waarde op een gemiddelde berust, is dat in de tabel door onderstrepen van de betreffende waarde aangegeven.

Van de overige hormonen zijn de hoogste en de laagste in de serie gevonden waarden in de tabel opgenomen.

6.4. Verschillen tussen de groepen in klinisch beeld en laboratoriumwaarden

6.4.1. Verschillen tussen de hoofdgroepen.

Tussen de groepen A, B en C (met bloedverlies per vaginam) en de groepen D en E (met secundaire amenorrhoe) opgemerkte verschillen werden, voor zover het kwalitatieve kenmerken betreft, met de vier velden toets (12) op hun statistische significantie getoetst. Bij deze tweezijdige toetsing werd de kans om ten onrechte aan te nemen dat verschil tussen de twee groepen bestaat (2α) ≤ 0.10 gesteld.

Quantitatieve gegevens werden getoetst met de toets van Wilcoxon (3), onder gebruikmaking van tabellen voor kritieke waarden (13). Tenzij anders vermeld werd een tweezijdige toetsing uitgevoerd, waarbij bij een uitkomst met een onbetrouwbaarheid $2\alpha \leq 0.05$ werd aangenomen, dat waargenomen verschillen niet op toeval berusten. Onderzoek van meer dan twee categorieën met kwantitatieve gegevens vond plaats met de toets van Kruskal en Wallis (4).

Er bleek geen verschil tussen de beide hoofdgroepen te bestaan wat betreft het aantal patiënten dat eerder met clomipheen is behandeld ($2\alpha > 0.20$). Ook het aantal vrouwen dat eerder een voldragen graviditeit had doorlopen bleek niet te verschillen ($2\alpha > 0.20$).

Het aantal patiënten dat niet vloeiende na belasting met progesteron bleek in de groepen D en E groter te zijn dan in de groepen A, B en C ($2\alpha = 0.02$).

Evenals een primair regulaire cyclus ($2\alpha = 0.002$) bleek adipositas vaker voor te komen in de groepen A, B en C dan in de groepen D en E ($2\alpha = 0.10$); ondergewicht werd bij vier patiënten in de groepen D en E opgemerkt en bij één patiënt in groep B.

Hirsutisme werd vaker gezien bij patiënten in de groepen A, B en C dan in de groepen D en E ($2\alpha = 0.10$).

De patiëntengroepen D en E waren jonger dan de patiënten uit de groepen A, B en C (Wilcoxon $S_O = 233$, $2\alpha = 0.01$) en bleken ook een kortere periode van ongewenste kinderloosheid te hebben doorgemaakt ($S_O = 253.9$, $2\alpha = 0.01$).

Het niveau van de gemiddelde plasma-oestradiol spiegels bij de patiënten uit de groepen D en E bleek lager te zijn dan bij de patiënten uit de groepen A, B en C ($S_O = 188$, $2\alpha = 0.01$). Het niveau van de gemiddelde FSH waarden vertoonde geen duidelijke verschillen ($S_O = 380.5$, n.s.), het LH niveau in de groepen D en E was lager dan in de groepen A, B en C ($S_O = 187$, $2\alpha = 0.01$). De excretie van de 17 ketosteroiden lag bij de patiënten uit de groepen D en E op een lager niveau dan bij de patiënten uit de groepen A, B en C ($S_O = 251.5$, $2\alpha = 0.01$).

De plasma-testosteron spiegels werden, zoals gezegd, alleen bij patiënten met hirsutisme nagegaan. Slechts drie van de elf patiënten bleken ten opzichte van de normale waarden te hoge spiegels te vertonen.

6.4.2. Verschillen tussen de subgroepen bij secundaire amenorrhoe.

De gemiddelde duur van de secundaire amenorrhoe bleek het langst te zijn bij de patiënten in groep D^{II} (Kruskal-Wallis: $H = 6.89$ ($\nu = 2$), $p < 0.001$). Er bleek geen verschil in de duur van de kinderwens.

De LH niveau's van de drie groepen D^I , D^{II} en E^I ("groep E^{II} " werd buiten beschouwing gelaten) bleken geen grote niveauverschillen te vertonen ($H = 3.83$, ($\nu = 2$), n.s. ($0.20 < p < 0.10$)).

De patiënten uit de groepen D^{II} en E^{II} , met een primair irregulaire cyclus, bleken een hoger gemiddeld LH niveau te vertonen dan de patiënten uit de groepen D^I en

E^I ($S_O = 82$, $\alpha = 0.05$); het was bij de eerstgenoemde groepen echter lager dan bij de patiënten uit de groepen A, B en C ($H = 10.04$, ($\nu = 2$), $p < 0.005$).

Noch tussen alle groepen onderling, noch tussen primair irregulaire (D^{II} en E^{II}) en primair regulaire patiënten (D^I en E^I) waren verschillen in niveau van het gemiddelde serum-FSH aantoonbaar (resp. $H = 2.53$, ($\nu = 2$), $0.30 < p < 0.20$) en $S_O = 53$, n.s.).

De gemiddelde oestradiol spiegels verschilden niet ($H = 2.96$, ($\nu = 2$), $0.20 < p < 0.10$), maar er bleek verschil te bestaan tussen de groepen D^{II} en E^{II} en D^I en E^I , in zoverre dat de eerste twee groepen een hoger niveau van het plasma-oestradiol vertonen ($S_O = 85$, $2\alpha = 0.05$) dan de tweede twee.

De excretie van 17 ketosteroiden bleek bij de groepen D^{II} en E^{II} op een hoger niveau te liggen dan bij de beide andere groepen (D^I en E^I) ($S_O = 97$, $2\alpha = 0.01$).

6.4.3. Verschillen tussen de subgroepen A, B en C.

Er bleken tussen de subgroepen A, B en C geen verschillen aantoonbaar te zijn in de aantallen patiënten met adipositas, hirsutisme of beiden. Ook kwam er geen verschil aan het licht in de duur van de kinderwens ($H = 2.38$, ($\nu = 2$), n.s.). De niveaus van de serum-FSH waarden en van de 17 ketosteroid excretie vertoonde geen duidelijke verschillen (resp. $H = 0.53$, ($\nu = 2$) en $H = 0.26$, ($\nu = 2$). Dit was wel het geval met het plasma-oestradiol ($H = 9.6$, ($\nu = 2$), $p < 0.005$) en met het serum-LH ($H = 11.7$, ($\nu = 2$), $p < 0.001$). De patiënten uit groep C vertoonden de hoogste LH waarden en de laagste oestradiol spiegels; in groep B bleek het niveau van het plasma-oestradiol het hoogst, in groep het serum-LH het laagst.

6.4.4. Bijzondere kenmerken van de patiënten met adipositas en/of hirsutisme.

Hirsutisme bleek vaker bij de adipeuze patiënten voor te komen dan bij de patiënten zonder overgewicht (vier velden toets $2\alpha = 0.10$).

Zoals reeds gezegd in 6.4.1. bevonden de meeste patiënten met hirsutisme en/of adipositas zich in de groepen A, B en C en ze hadden dus nog, hoe sporadisch ook, bloedverlies per vaginam. Zij bleken dan ook vaker een primair irregulaire cyclus te vertonen ($2\alpha = 0.05$) dan de patiënten zonder de betreffende verschijnselen. De duur van de kinderwens bleek niet duidelijk van de overige patiënten met een primair irregulaire cyclus te verschillen.

Binnen de patiënten met een primair irregulaire cyclus, de groepen A (behalve a-3), B, C, D^{II} en E^{II} werden de groepen met adipositas, met hirsutisme en met zowel adipositas als hirsutisme (zie tabel VI-1) vergeleken met de patiëntengroep zonder deze verschijnselen (Kruskal-Wallis). Daarbij kwamen geen duidelijke verschillen aan het licht wat betreft de niveau's van 17 ketosteroid excretie, plasma-oestradiol en serum-LH en -FSH.

Bij onze patiënten is het dus niet mogelijk om met behulp van de in dit onderzoek verrichte laboratoriumbepalingen karakteristieken van patiënten met adipositas en/of hirsutisme te geven.

Na samenvoegen in één groep van alle primair irregulaire patiënten die deze verschijnselen vertonen bleek bij vergelijking met de primair irregulaire patiënten zonder overgewicht of hirsutisme dat het niveau van het FSH in het serum in de eerst genoemde groep lager lag (Wilcoxon, $S_0 = 230$, $2\alpha = 0.05$).

6.4.5. Bijzondere kenmerken van patiënten met ondergewicht.

Ondergewicht werd vooral in de groepen D^I en E^I gezien. Vergeleken met de overige patiënten in deze groepen was er bij ondergewicht (de patiënten d.1-1. d.1-2,

d.1-3 en e.1-4) vaker een negatieve, twijfelachtige of partiële respons van de progesteron belastingstest. De duur van de secundaire amenorrhoe, noch de duur van de kinderwens bleek van die bij de patiënten met normaal gewicht (zie tabel VI-1) te verschillen.

Van de hormoonwaarden bleek alleen het serum-LH niveau lager dan bij de patiënten met een normaal gewicht ($S_0 = 10$, $2\alpha = 0.05$).

Mede gezien het resultaat van de progesteron belastingstest bij ondergewicht is het aannemelijk, dat een laag serum-LH karakteristiek is voor de patiëntengroep met een te laag lichaamsgewicht.

6.4.6. Samenvatting van karakteristieken van patiënten met primair regulaire en primair irregulaire cyclus.

De patiënten met een vanaf de menarche regelmatige cyclus werden vrijwel uitsluitend in de groepen met secundaire amenorrhoe aangetroffen ($2\alpha = 0.05$). Vergelijken met de groepen D^{II} en E^{II} (6.4.2.) hadden zij (de groepen D^I en E^I) in het algemeen een lagere 17 keto-steroid excretie en een lager niveau van het plasma-oestradiol en van het serum-LH. Zij vertoonden vaker een ondergewicht dan patiënten met een vanaf de menarche bestaande irregulaire cyclus.

De patiënten met vanaf de menarche bestaande irregulaire cyclus hadden ook ten tijde van het onderzoek meestal nog vaginaal bloedverlies. Adipositas en/of hirsutisme werd het meest bij hen aangetroffen. De excretie van 17 ketosteroiden lag op een hoger niveau dan bij de patiënten met een primair regulaire cyclus, evenals dat van de serum-LH waarden en van het plasma-oestradiol. Binnen de irregulaire groep hadden de patiënten met adipositas en hirsutisme lagere FSH waarden dan de patiënten zonder deze verschijnselen.

6.5. Resultaten van het aanvullend onderzoek

6.5.1. Resultaten van laparoscopie en histologisch onderzoek van de ovariumbipten.

In tabel VI-3 zijn de macroscopische bevindingen aan de ovaria en die van het histologisch onderzoek van de bij laparoscopie genomen ovariumbiopsieën weergegeven.

De indicatiestelling voor deze ingreep werd in 6.2.4. reeds besproken. Zoals reeds gezegd, werd de laparoscopie in gevallen waarbij tevoren clomipheen behandeling had plaatsgevonden tenminste drie maanden na de laatste behandeling verricht, zodat de kans dat iatrogene cysten werden waargenomen, klein moet worden geacht.

Van vijf patiënten (c-9, d.2-6, c-7, c-8 en b-2) zijn behalve het per laparoscopie genomen biopt ook de later genomen wigexcisies in de tabel opgenomen. Ook hierbij was er een periode van minimaal drie maanden tussen de laatste clomipheen toediening en de operatie.

Zoals uit de tabel blijkt, werden alle macroscopische kenmerken van polycysteuze ovaria: vergrote ovaria met fibreuze schors, toegenomen vaatinjectie, multipele cysten en ontbreken van corpora lutea en corpora albicantia slechts zelden tegelijk bij één patiënt aangetroffen. Ook histologisch onderzoek leverde weinig karakteristieke kenmerken op. De overeenkomst tussen de patholoog-anatomische bevindingen bij per laparoscopie genomen bipten en de per laparotomie genomen wigen was matig en roept twijfel op over de representativiteit van de per laparoscopie genomen bipten.

Van de 17 patiënten met hirsutisme of vergrote ovaria bleken er 13 multipele cysten van de ovaria te vertonen, één patiënt (b-4) unilateraal. Van de zeven patiënten met hirsutisme waren er vijf, bij wie histologisch on-

Tabel VI-3 (1). Resultaten van laparoscopische inspectie van de ovaria en van histologisch onderzoek van de ovariumbiopsie.

A. Patiënten met hirsutisme.

patiënt	grootte ovaria 1)	aspect oppervlak 2)	c. lutea 3)	c. albic. 3)	vaatinjectie v.h. oppervlak 4)	representativiteit	histologisch onderzoek	enzymhistochemie
b-8	3	A 1	—	—	3	R	schorsfibrose, weinig prim. follikels, multipele cystetjes met verdikte theca. Geen c. lutea of c. albicantia. Veldjes thecomateus veranderde stromacellen.	sterk verhoogde enzymactiviteit in de thecacellen.
b-9	3	B 3	—	—	3	R	iets verdikking van de schors; zeer veel banale follikelcystetjes, geen c. lutea of albicantia.	
b-10	2	B 1	—	+	2	R	normale schors, normaal aantal prim. follikels; diverse follikels in verdere stadia van rijping; ovarium zonder afwijkingen.	
c-7	3	A 4	—	—	3	R	ovarium zonder afwijkingen.	sterke activiteit in thecacellen rond follikels. Zeer brede theca rond de grootste follikels.
c-8	3	A 3	—	—	3	R	fibreus kapsel, vele cystetjes. geen c. lutea of c. albicantia geen hyperthecose.	
c-9	3	B 4	—	—	3	nR	geen fibrose, weinig prim. follikels, multipele cystes, geen c. lutea of c. albicantia.	
d.2-6	3	A 4	—	—	3	R	uitgesproken fibrose, vele grotere en kleine cystetjes.	

Tabel VI-3 (2).

B. Patiënten met vergrote ovaria.

patiënt	grootte ovaria 1)	aspect oppervlak 2)	c. lutea 3)	c. albic. 3)	vaatinjectie v.h. oppervlak 4)	representativiteit	histologisch onderzoek	enzymhistochemie
b-2	3	A 4	—	—	3	nR	fibrose van de schors; geen cystes of follikels gezien.	
b-4	Li 2/Re 3	Li B1/Re B4	—	+	2	nR	ovarium zonder afwijkingen	
b-6	3	B 4	—	—	2	R	wat weinig prim. follikels, echter geen duidelijke afwijkingen.	
b-7	3	B 1	—	+	2	nR	—	
c-1	3	B 4	—	—	1	R	normaal aantal prim. follikels. vrij veel cystetjes	geen activiteit aantoonbaar
c-2	3	A 4	—	—	3	R	enige fibrose. Weinig prim. follikels, veel atretische en fibreuze follikels. Enkele c. albicantia.	geen activiteit aantoonbaar
c-4	3	A 1	—	—	3	R	iets fibrose, multiële cysten met verdikte theca, hier en daar luteïnisatie. Geen afw. in het stroma.	
c-5	3	A 3	—	—	3	R	fibreus kapsel, vele banale follikel-cystetjes, geen c. lutea of c. albicantia. Geen afwijkingen in het stroma.	weinig activiteit in de enzymkleuringen
c-6	3	B 3	—	—	2	nR	lichte schorsfibrose, weinig prim. follikels. Kapje van een banale follikelcyste.	
d.2-4	2	B 2	—	+	2	R	nl. aantal prim. follikels, c. albicantia aanwezig.	geen activiteit.

Tabel VI-3 (3).

C. Bevindingen bij wigexcisie uit de ovaria.

patiënt	grootte ovaria 1)	aspect oppervlak 2)	c. lutea 3)	c. albic. 3)	vaatinjectie v.h. oppervlak 4)	histologisch onderzoek	enzymhistochemie
c-7	3	A 4	-	-		fibreus kapsel. Vele grote en kleine cysten met geluteïniseerde theca. Een corpus albic. Diffuse stromahyperplasie.	zeer actieve theca van alle cysten.
c-8	2	A 3	+	+	2	enige kapselfibrose. Een vrij recent corpus luteum, enkele cysteuze follikels, merendeels met atresie. Geen bepaalde diagnose.	
c-9	3	A 4	-	-	3	kapselfibrose en sterke vaatinjectie, vele cysten, normaal aantal prim. follikels, geen c. lutea, wel c. albicantia.	sterke activiteit in de theca v.d. cysten, maar ook i.h. stroma ovarii.
d.2-6	3	A 4	-	-	3	verdikte schors; vele follikelsystemen met atresie, norm. aantal prim. follikels.	sterke activiteit in de hyperplastische theca.
b-2	3	A 4	-	+	3	verbrede kapsel, normaal aantal prim. follikels, multipele follikelcysten, ook c. albicantia.	sterke activiteit in de theca, ook is er hyperthecose.

Tabel VI-3 (4).

D. Laparoscopie wegens uitblijven van conceptie of verdenking op mechanische afwijkingen.

patiënt	grootte ovaria 1)	aspect oppervlak 2)	c. lutea 3)	c. albic. 3)	vaatinjectie v.h. oppervlak 4)	R	histologisch onderzoek	enzymhistochemie
c-3	2	B 1	-	+	2	R	ovarium zonder afwijkingen	
d.2-2	2	B 1	-	-	2	R	ovarium zonder afwijkingen	
e.1-1	1	B 1	-	-	1	R	ovarium zonder afwijkingen	

R = representativiteit

Li = links

Re = rechts

1) ovariumgrootte: 1 = klein
 2 = normaal
 3 = groter dan normaal

2) aspect: A = fibreus 1 = glad 3 = kleine cystes
 B = niet fibreus 2 = follikels zichtbaar 4 = grotere cystes

3) corpora lutea + = aanwezig
 corpora albicantia - = niet gezien

4) vaatinjectie 1 = afwezig
 2 = normaal
 3 = versterkt

5) representativiteit R = representatief
 nR = niet representatief

derzoek afwijkingen aantoonde die in overeenstemming zijn met de diagnoses "Stein-Leventhal syndroom" of hyperthecose. Bij de patiënten zonder hirsutisme was dit twee maal het geval.

Het is gezien de grote heterogeniteit niet goed mogelijk om in deze kleine serie op grond van laparoscopische bevindingen en routine histologisch onderzoek tot een nadere indeling van de patiënten te komen.

6.5.2. Enzym-histochemisch onderzoek van de ovarium-biopten.

Enzym-histochemisch onderzoek van ovariumbipten werd niet vaak genoeg verricht om conclusies te kunnen trekken. Voor de methodiek die in het Pathologisch Anatomisch Instituut van de R.U.G. wordt gebruikt moge worden verwezen naar twee publicaties van Koudstaal, Bossenbroek en Hardonk (6,7). In het eerste artikel wordt het enzympatroon van het normale en het thecomateuze ovarium beschreven. Met de methodiek is het mogelijk steroidogene activiteit van de verschillende ovariële compartimenten op het spoor te komen. Deze materie werd in een recent proefschrift (10) door Snoeiijing belicht. De resultaten van het enzym-histochemisch onderzoek zijn in dit kleine materiaal suggestief voor de veronderstelling dat bij patiënten met hirsutisme een verhoogde steroidogene activiteit in de ovaria bestaat, terwijl deze bij patiënten met extreme oligomenorrhoe - categorie C (zie 6.3.2.) - zonder hirsutisme juist gering is.

6.5.3. Resultaten van de dexamethason suppressie/HCG stimulatie tests.

Bij zes patiënten met hirsutisme en vergrote ovaria werd een gecombineerde bijniersuppressie-ovariumstimulatie test uitgevoerd. Het verloop van de testosteronspiegels in het plasma tijdens de test is in tabel VI-4 weerge-

Tabel VI-4. Patiënten met hirsutisme: gedrag van plasmatestosteron tijdens de DXM/HCG test.*)

	testosteron, ng/100 ml				na 4 dagen DXM en 3 dagen DXM + HCG		conclusie
	basaal (1)	absol. (2)	perc. van (1)	absol.	perc. van (2)	perc. van (1)	
b-8	105/108	69/ 70	65	131/134	191	124	0
b-10	117/119	102/102	86	106/110	106	91	?
c-7	92/ 98	84/ 89	91	112/114	131	119	0
c-8	100/127	120/125	108	180/210	159	172	0
c-9	138/146	76/ 84	56	132/138	113	95	A + 0
d.2-6	167/181	92/ 97	54	161/164	172	93	A + 0

A = vnl. adrenale T overproductie

0 = vnl. ovariële T overproductie.

*) Wanneer na vier dagen dexamethason toediening het plasmatestosteron meer dan 40% is gedaald, wordt ACTH-afhankelijke testosteronproductie aangenomen. Wordt na toediening van HCG, onder voortdurende supressie van het ACTH, ten opzichte van de uitgangswaarde een toename van het plasma-testosteron gevonden, dan wordt HCG-afhankelijke testosteronproductie aanwezig geacht.

geven.

Op grond van het verloop van het plasma-testosteron werd bij drie patiënten (b-8, c-7, c-8) aannemelijk geacht, dat in de ovaria te veel testosteron werd geproduceerd. Bij patiënt c-8 was deze conclusie niet in duidelijke overeenstemming met de histologische bevindingen van de genomen biopten uit de ovaria.

Bij twee patiënten met adipositas (c-9, d.2-5), was het niet mogelijk om uit te maken of de te hoge uitgangswaarden van het plasma-testosteron uit de bijnieren of uit de ovaria afkomstig waren. In de ovariumbiopsieën werden tekenen van verhoogde theca-activiteit waargenomen. Bij patiënt b-10 werd een niet te interpreteren uitslag verkregen.

De bevinding, dat slechts in de helft van de gevallen een aanwijzing werd verkregen over de productieplaats van een te hoog testosteron gehalte van het plasma, is teleurstellend, maar nog relatief gunstig. De meeste patiënten met hirsutisme hebben tevens overgewicht en een bij hun verrichte DXM/HCG test geeft bijna steeds een zelfde resultaat als bij de hier beschreven drie patiënten, dat wil zeggen dat zowel een "adrenale" als een "ovariële" component in het te hoge plasma-testosteron aanwezig was.

In het algemeen waren de bevindingen bij deze gecombineerde bijniersuppressie en ovariumstimulatie test moeilijk te interpreteren. Ook combinatie met de bevindingen bij de diagnostische laparoscopie en het histologisch/enzym-histochemisch onderzoek van ovariumbiopten leverde weinig houvast voor een classificatie van de patiënten.

De procedure werd in de boven beschreven vorm dan ook niet verder gebruikt voor de routine diagnostiek.

Literatuur

1. Goldenberg R.L., Grodin J.M., Vaitukaitis J.L., Ross G.T., Am.J.Obstet.Gynecol. 115:193, 1973.
2. Jayle M.F., Scholler R., Mauvais-Jarvis P., Szper M., Clin.Chim.Acta 7:322, 1962.
3. Jonge M. de, Inleiding tot de Medische Statistiek, dl. 1, Leiden 1958, p. 237 e.v.
4. Jonge M. de, ibidem, p. 246.
5. Kersen F. van, TRH, TSH en schildklierfunctie. Proefschrift, Groningen, 1973, p. 38.
6. Koudstaal J., Bossenbroek B., Hardonk M.J., Europ. J.Cancer 2:313, 1966.
7. Koudstaal J., Bossenbroek B., Hardonk M.J., Am.J. Obstet.Gynecol. 102:1004, 1968.
8. Kuhl W.J., Beck E.M., Gershberg H., Street E., Ralli E.P., Metabolism 4:143, 1955.
9. Nichols T., Nugent C.A., Tyler F.M., Am.J.Med. 45: 116, 1968.
10. Snoeying R., De localisatie van het steroidmetabolisme in ovarium en ovariumtumoren. Proefschrift Groningen, 1975.
11. Wissenschaftliche Tabellen. (K.Diem, C. Lentner eds.) J.R. Geigy, Basel, 1968. p. 588.
12. ibidem, p. 109 e.v.
13. ibidem, p. 124 e.v.

VII

Klinische resultaten van de behandeling met clomipheen en enkele alternatieven

7.1. Inleiding

Voordat wordt ingegaan op de fluctuaties van verschillende hormoonwaarden tijdens en na de clomipheen toediening worden de criteria voor vermoedelijk ovulatoir verloop van een cyclus kort besproken en worden de resultaten van de behandeling meegedeeld.

7.1.1. De basale temperatuurcurve (BTC).

Bij de vrouw met een ovulatoire cyclus toont de lichaamstemperatuur onder basale condities een karakteristiek bifasisch verloop. In de postmenstruele periode is er een relatief lage temperatuur, waarbij de lengte van de periode en de hoogte van de temperatuur per cyclus kan verschillen. Kort voor de ovulatie treedt vaak een daling op (1), waarbij men aanneemt dat op de dag dat de temperatuur het laagst is (het nadir van de curve) de ovulatie plaatsvindt. Men vermoedt, dat de snelle stijging van oestrogenen in de direct prae-ovulatoire periode verantwoordelijk is voor de prae-ovulatoire temperaturdaling (2,6).

Na de ovulatie bereikt de basale temperatuur in twee tot vier dagen een karakteristiek hypertherm plateau, dat plm. 0.5°C boven de in de follikelfase gemeten waarde ligt. Algemeen wordt aangenomen, dat deze tempe-

ratuurstijging veroorzaakt wordt door het post-ovulatoir geproduceerde progesteron (2,8,18). In hoeverre de beschreven veranderingen directe effecten van de steroid hormonen zijn en in hoeverre zij veroorzaakt worden door beïnvloeding van de catechol- en indolaminen huishouding in cerebro (6,21) is een open vraag. In de praktijk wordt het bifasisch verloop van de basale temperatuur beschouwd als een betrouwbare aanwijzing dat ovulatie is opgetreden.

Moghissi et al (12) vergeleken de "klassieke" gynaecologische methoden ter beoordeling van de menstruele cyclus met de gegevens, verkregen uit de dagelijkse meting van de gonadotropinen in het serum, de plasma-progesteron spiegel en de pregnaandiol- en oestrogeen excretie in de urine. Zij vonden een zeer goede relatie tussen het verloop van de verschillende hormoonbepalingen en de resultaten van de klassieke methoden. Met name was dit het geval met de oestrogeenpiek, de hoogste waarde die voor serum-LH werd gevonden en de sprong van de basale temperatuurcurve. Recent bevestigden Morris et al (13) deze tijdsrelatie tussen LH piek en BTC nadir.

7.1.2. Cervixslijm: rheologische eigenschappen en kristallisatiefenomeen.

De fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm vertoonden in het bovengenoemde onderzoek van Moghissi et al een opmerkelijk goede relatie met de prae-ovulatoire stijging van de oestrogeen excretie. Ook in ons onderzoek werden de veranderingen die aan het cervixslijm waarneembaar zijn gebruikt om een indruk te krijgen over het al dan niet ovulatoir verlopen van een cyclus. Voor een beschrijving van de methoden die in onze kliniek worden gebruikt om het cervixslijm tijdens de cyclus te onderzoeken, moge worden verwezen naar het proefschrift van Kremer (9). De voornaamste modificatie die sedertdien is aangebracht bestaat daaruit, dat het

cervixslijm niet meer verkregen wordt met de tang volgens Palmer, maar wordt opgezogen in een tuberculine spuit, nadat de ectocervix is gereinigd. De gemakkelijkst waarneembare veranderingen die tijdens de spontane cyclus in de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm optreden zijn van rheologische aard. Onder invloed van oestrogenen neemt de non-newtoniaanse "viscositeit" af en treedt in toenemende mate het verschijnsel op, dat het slijm zich tot lange draden laat uitspinnen. Progesteron en progestativa daarentegen veroorzaken een toename van de "viscositeit", terwijl in aanwezigheid van progesteron de "Spinnbaarheid", het bovenvermelde vermogen om lange draden te vormen, verloren gaat.

Bovendien is in door oestrogenen gestimuleerd cervixslijm de verhouding tussen water, NaCl en eiwit-bestanddelen zodanig, dat bij droging een karakteristiek varent patroon ontstaat door geremde kristallisatie van het NaCl (3). Ook deze eigenschap, die beoordeeld wordt met behulp van de zogenaamde "varentest" gaat in de luteale fase van de cyclus onder invloed van progesteron verloren.

De postovulatoire omslag van de varentest en van de rheologische eigenschappen geven dus een aanwijzing, dat progesteron in voldoende mate is gevormd om een ovulatie aannemelijk te doen zijn. Voor een uitgebreid onderzoek naar het gedrag van het cervixslijm tijdens de cyclus wordt verwezen naar het proefschrift van Kroeks (10).

7.1.3. Endometriumbiopsie op de eerste dag van vaginaal bloedverlies.

Voor zover endometriumbiopsieën op de eerste dag van vaginaal bloedverlies zijn genomen, moet worden gezegd dat een biopsie op dit moment niet geschikt lijkt als hulpmiddel voor beoordeling van het functioneren van

het corpus luteum. Bij vier van zeven cycli met korte luteale fase werd endometrium verkregen, dat zich alleen door niet optimale secretieverschijnselen (voor zover te beoordelen) van endometrium menstruale onderscheidde. Hoewel meer informatie kan worden verwacht van een praemenstrueel genomen biopt (3.3.1.), werd het risico van beschadiging van een geïmplanteed ei te groot geacht om de procedure te wijzigen en werd verder afgezien van histologisch onderzoek als hulpmiddel om een ovulatie vast te stellen.

7.1.4. Excretie van LH in de urine.

In ons onderzoek was niet alleen het antwoord op de vraag of ovulatie plaatsvond van belang, maar ook, hoe lang de luteale fase heeft geduurd. Hiervoor is nodig, het moment van ovulatie in een ovulatorische cyclus zo nauwkeurig mogelijk te bepalen. In 7.1.1. werd reeds vermeld, dat door verschillende onderzoekers een zeer goede correlatie tussen de serum-LH piek, de oestrogeen excretie in de urine en de stijging van de BTC werd gevonden. Gedurende achttien cycli van ons onderzoek werd de dagelijkse LH excretie in de ochtendurine met behulp van luteonosticon® (19) semiquantitatief bepaald. De BTC van vijftien cycli duidde op een ovulatoir verloop van de cyclus. Vijf keer was dit zeker het geval, omdat zwangerschap optrad. In elf van de vijftien cycli trad de maximale LH excretie (178 ± 47 IE eq/gram creatinine) op de dag vóór de BTC sprong op; in twee cycli steeg de basale temperatuur geleidelijk, zodat de relatie minder duidelijk was. In de twee overige gevallen werd een maximale LH excretie gevonden, die langer dan een dag duurde. Beide keren behoorde de dag vóór de stijging van de basale temperatuur tot één van deze dagen van maximale LH excretie.

7.1.5. Excretie van pregnaandiol (en pregnaantriol).

In dezelfde cycli werd ook de pregnaandiol en pregnaantriol excretie in de urine bepaald. Ook daar blijkt een goede relatie met het verloop van de BTC en de LH excretie te bestaan (fig. 7-1). De stijging van de pregnaan-

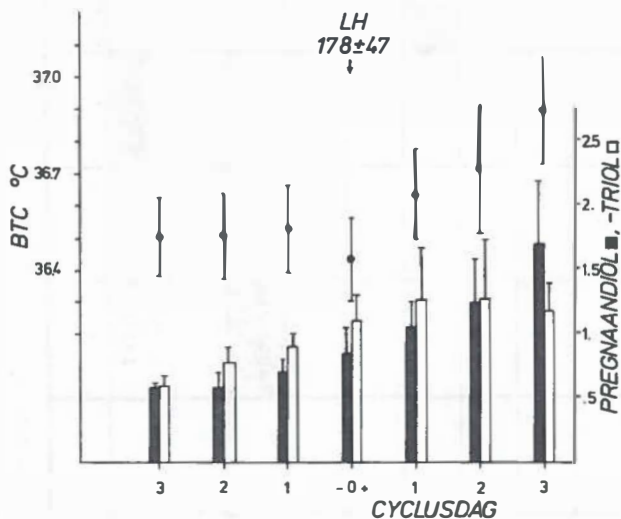


Fig. 7-1.

De excretie van pregnaandiol (zwarte kolom, gem. + sd) en pregnaantriol (witte kolom, gem. + sd) in de per gram creatinine gecorrigeerde ochtendurine gedurende de week rond de ovulatie. n = 15; • = gemiddelde basale temperatuur.

diol excretie vindt gelijktijdig plaats met het stijgen van de BTC; de excretie van pregnaantriol is (ten opzichte van dag -2 en eerder) al duidelijk verhoogd op de dag waarop de LH piek werd gevonden, dag 0.

7.1.6. Anamnestic gegevens.

Ook anamnestic gegevens als (bij conceptie) de coïtusdatum, het optreden van zogenaamde mucorrhoe (4) en eventuele ovulatiepijn kunnen bruikbaar zijn bij het in retrospectie vaststellen van de dag, waarop ovulatie heeft plaatsgevonden.

Tabel VII-1. Groepen A, B en C. Resultaten van de clomipheenbehandeling bij patiënten die gravida werden.

pat.	5 x 100 mg. clomipheen			5 x 150 mg. clomipheen			5 x 200 en 5 x 250 mg. clomipheen			geleidelijk stijgende dosis (zie 6.2.4.)		
a-1	1 ovula- toir(?)	2										
a-2	1 ovula- toir	conc. abortus										
a-3	1											
a-4				1								
b-1	1 ovula- toir									2		
b-3	1 anovu- latoir			2 abortus								
b-5	1 ovula- toir	2 abortus										
b-8	1 ovula- toir	2 ovula- toir	3 ovula- toir 3)				4 abortus 3)	conc. 3)				
c-4 1)	1											
c-5	1 anovu- latoir			2 anovu- latoir			3 anovu- latoir		4 5x250			
c-6 2)	1 ovula- toir									2		

(?) onvoldoende gegeven wat betreft laboratoriumwaarden

1) 6 x anovulatoir vóór vermagering; dosering tot 7 x 250

2) 4 x anovulatoir vóór vermagering; dosering tot 5 x 200

3) + 5 mg. prednison

= conceptie bij clomipheentherapie; conc.= spontane conceptie binnen 3 maanden na clomipheen behandeling

Tabel VII-2. Groepen D en E. Resultaten van de clomipheen behandeling bij patiënten die gravida werden.

pat.	5 x 50 mg. clomipheen			5 x 100 mg.		5 x 150 mg.		5 x 200 en 5 x 250 mg.		geleidelijk stijgende dosis (zie 6.2.4.)		
d.1-1	¹ anovu- latoir	conc.										
d.1-4	¹ ovula- toir	² ovula- toir(?)	conc.									
d.1-5				¹ ovula- toir (?)						² 3x100 2x200		
d.2-1	¹ ovula- toir			² ovula- toir						³ ovula- toir	conc.	
d.2-2				¹ anovu- latoir		² anovu- latoir		³ 5x250 abortus 3)	conc. 3)			
d.2-5				¹								
e.1-1	¹ anovu- latoir			² ovula- toir						³ ovula- toir	conc.	
e.1-2	¹ ovula- toir			² ovula- toir		³ ovula- toir	conc.					
e.1-3	¹											
e.1-5				¹								
e.2-1	¹											

Legenda als tabel VII-1.

Tabel VII-3. Groepen A, B en C. Resultaat van clomipheen behandeling bij patiënten waarbij geen conceptie optrad.

Pat.	5 x 100 mg. clomipheen			5 x 150 mg. clomipheen			5 x 200 en 5 x 250 mg. clomipheen			geleidelijk stijgende dosis (zie 6.2.4)		
b-2	¹ ovul. □	² ovul.								³ ovul. □	⁴ ovul.	⁵ ovul.
b-4	¹ ovul.	² ovul.								³ ovul.	⁴ ovul.(?)	
b-6	¹ anov.						² ovul.			³ ovul.		
b-7	¹ ovul.									² ovul.	³ ovul.	
b-9	¹ ovul.			² ovul.(?)						³ ovul.		
b-10	¹ ovul. □			² ovul.	³ ovul. □					⁴ ovul.		
c-1	¹ anov.			² anov.								
c-2	¹ anov.			² anov.	³ anov. □		⁴ anov.					
c-3	¹ ovul.(?)			² ovul.(?)			³ ovul. □					
c-7	¹ anov.			² anov.			³ anov.					
c-8	¹ anov.			² anov.						³ anov.		
c-9	¹ ovul. □											

□ = met endometriumbiopsie op eerste dag van de menses

(?) = onvoldoende gegevens wat betreft laboratoriumwaarden

Tabel VII-4

Pat.	5 x 50 mg. clomipheen			5 x 100 mg.		5 x 150 mg.		5 x 200 mg.		geleidelijk stijgende dosis (zie 6.2.4.)		
d.1-2	¹ anov.											
d.1-3	¹ anov.			² anov. □						³ anov.		
d.2-3				¹ ovul. □						² ovul. □		
d.2-4				¹ anov.	² anov.	³ anov. □				⁴ anov.		
d.2-6				¹ anov.	² anov.	³ ovul.(?)		⁴ ovul. □	⁵ anov.			
e.1-4	¹ anov.			² anov.						³ anov.		

□ = endometriumbiopsie op de eerste dag van de menses

(?) = onvoldoende gegevens wat betreft de laboratoriumwaarden

Groepen D en E. Resultaat van clomipheenbehandeling bij patiënten waarbij geen conceptie optrad.

7.1.7. Samenvatting.

Wanneer de BTC bifasisch was, de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm overeen kwamen met de bevindingen bij de spontaan ovulatoire cyclus en de pregnaandiol excretie duidelijk hoger was dan in de vroege fase van de cyclus, werd aangenomen dat ovulatie was opgetreden (voor zover conceptie ovulatie niet zeker maakte). Op grond van het in het voorafgaande besprokene werd aangenomen dat deze op de dag vóór de temperatuursprong had plaats gevonden. Wanneer deze sprong niet duidelijk was, werd gebruik gemaakt van de in 7.1.5. beschreven veranderingen van de pregnaandiol en pregnaantriol excretie. Soms kon bovendien op geleide van de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm of van anamnestiche gegevens houvast voor het bepalen van de ovulatie dag worden gevonden. Wanneer het niet lukte om redelijke zekerheid over de datum te krijgen werd een marge van \pm één dag aangehouden.

7.2. De resultaten van de behandeling met clomipheen

7.2.1. Zwangerschappen.

Van de 40 patiënten werden er na behandeling met alléén clomipheen 18 zwanger: twaalf patiënten bij een door clomipheen geïnduceerde ovulatie, zes bij een ovulatie die spontaan binnen drie maanden na een behandeling optrad.

In de groepen A, B en C (zie tabel VII-1) concipiëerden acht patiënten. In groep A, de groep met de kortste intervallen tussen het vaginale bloedverlies, werden alle patiënten na kortdurende behandeling zwanger. Eén maal trad abortus op (a-2). Drie van de vier patiënten hadden enkele jaren tevoren een tot zwangerschap voerende clo-

mipheen behandeling ondergaan en ovuleerden af en toe spontaan, zodat het resultaat in deze groep waarschijnlijk enigszins geflatteerd is. Het is daarom ook twijfelachtig of de zwangerschap bij patiënt a-2 onder invloed van clomipheen behandeling is ontstaan.

In groep B, de tien patiënten met oligomenorrhoe, traden na behandeling met alléén clomipheen slechts drie zwangerschappen op. Daarvan eindigden er twee in een abortus.

Van de negen patiënten uit groep C, de groep met extreme oligomenorrhoe, werd slechts één patiënt, en dan nog bij verrassing, zwanger na clomipheen behandeling alléén (c-5). De ovulatie trad zo laat op, (meer dan drie weken na de laatste dag waarop clomipheen werd toegediend) dat over de prae-ovulatoire en de luteale fase van deze cyclus met conceptie geen gegevens werden verkregen.

Van de zeventien patiënten met secundaire amenorrhoe zijn er tien na behandeling met alleen clomipheen zwanger geworden (tabel VII-2): vijf van de elf patiënten uit groep D en vijf van de zes uit groep E.

7.2.2. Additionele maatregelen bij de behandeling.

Bij een aantal patiënten werden aanvullende therapeutische maatregelen toegepast, omdat duidelijk was, dat behandeling met clomipheen niet tot zwangerschap of ovulatie voerde.

7.2.2.1. Vermagering.

Vanaf januari 1973 werd aan patiënten met overgewicht zo spoedig mogelijk na het eerste poliklinische contact een vermageringsdieet voorgeschreven. Wanneer het ondanks dit dieet niet lukte om een gewichtsvermindering te bereiken, werd in samenwerking met de diëtiste een intensieve begeleiding van de patiënt begonnen.

Twee patiënten c-4 en c-6, hadden vóór deze datum zes,

respectievelijk vier maal hoge doses clomipheen toegediend gekregen, waarbij het maar één keer tot een mogelijk ovulatoire reactie was gekomen. Nadat zij met hulp van de diëtistes tot hun ideale gewicht waren vermagerd (een gewichtsverlies van resp. 13 en 15 kg.), werd de bloedingsfrequentie groter en traden mogelijk af en toe spontane ovulaties op. Na hervatting van de clomipheen behandeling concipiëerden beiden na korte tijd.

Bij patiënt b-10 vond in november 1975 spontane conceptie plaats. Zij was vóór mei 1973 tot een gewicht van 50.2 kg. vermagerd en een half jaar na het staken van de clomipheen therapie was een ovulatoire, licht irreguliere cyclus ontstaan. Er bleek zich in de zwangerschap een mola hydatidosa te hebben ontwikkeld, waarvoor zij in de tiende zwangerschapsweek werd gecuretteerd.

Bij de overige adipeuze patiënten was de invloed van de gewichtsvermindering op de menstruatiestoornis niet merkbaar of mislukte de vermagering.

7.2.2.2. Toediening van glucocorticoiden.

Aan twee patiënten (b-8 en d.2-2) werd 5 mg. prednison dd., 's avonds te gebruiken, gedurende maximaal drie maanden voorgeschreven. Een indicatie voor deze maatregel werd aanwezig geacht omdat bij beiden betrekkelijk hoge, door dexamethason goed te onderdrukken nuchtere cortisol spiegels en een hoge excretie van 17 hydroxy steroiden in de urine werd gevonden, terwijl anderzijds de reactie op clomipheentoediening onvoldoende was en werd gekenmerkt door niet waarneembare stijging van het serum-FSH, geringe stijging in het plasma-oestradiol en desondanks een sterke oestrogene stimulatie van het cervixslijm. Aangenomen werd, dat bij deze patiënten een hoger dan normale oestron spiegel bestond, waaraan door de bijniereen belangrijke bijdrage zou kunnen zijn geleverd doordat gesecerneerd androsteendion perifeer in oestron kan worden omgezet (1,11,15). De toediening

van prednison had dan ook ten doel, de nachtelijke ACTH stijging te verminderen en daardoor de adrenale bijdrage aan de androsteendion spiegel in het plasma zo klein mogelijk te maken. Het effect van prednison op de gemeten hormonen komt in hoofdstuk VIII ter sprake.

Bij beide patiënten heeft de behandeling een zelfde resultaat gehad: toediening van clomipheen tijdens de periode van prednison gebruik resulteerde in een conceptie, die in abortus eindigde. Toen na de abortus de prednison behandeling werd hervat, volgde spontane conceptie met een normaal verloop van de zwangerschap. De prednison toediening werd in beide gevallen gestaakt zodra de zwangerschap was vastgesteld.

7.2.2.3. Uiteindelijke resultaten van de behandeling met clomipheen.

Door of na de bijkomende maatregelen ontstonden dus nog zeven zwangerschappen, waarvan er drie in abortus eindigden en drie niet door clomipheen behandeling waren ontstaan. Wanneer de kuren, die aan de patiënten c-4 en c-6 vóór hun vermagering werden toegediend buiten beschouwing worden gelaten, ontstonden ook nu alle zwangerschappen na ten hoogste vier clomipheen kuren. Dertien van de zestien concepties bij door clomipheen toediening geïnduceerde ovulaties traden na de eerste of tweede behandeling op. Er waren twee spontane concepties na één clomipheen kuur, één na twee kuren en drie, bij patiënten met secundaire amenorrhoe, na drie kuren (fig. 7-2). Dertien keer lag de ovulatiedag tussen de 10e en 16e dag, d.i. vijf tot elf dagen na de laatste dag waarop clomipheen werd ingenomen (fig. 7-3).

7.2.3. Ovulatie zonder conceptie.

Achttien patiënten werden ook nadat eventuele additionele behandeling was ingesteld niet zwanger na behande-

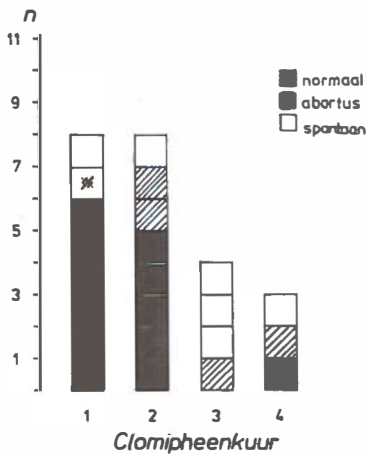


Fig. 7-2.
Het aantal clomipheenkuren dat nodig
was om zwangerschap te doen ontstaan
(alle patiënten).

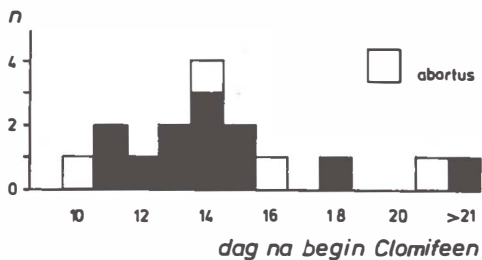


Fig. 7-3.
De dag waarop na clomipheene behandeling ovu-
latie plaatsvond bij 16 cycli met conceptie.

ling met clomipheene: twaalf patiënten in de groepen A, B en C (Tabel VII-3) en zes in de groepen D en E (tabel VII-4).

Alleen bij de zes patiënten uit groep B kon dit niet worden verklaard door uitblijven van ovulatie: op de 22

kuren volgde 21 maal een ovulatie.

De zes patiënten uit groep C kregen 16 kuren toegediend, waarvan er vier ovulatoir verliepen.

Vijf patiënten uit groep D werden 15 maal behandeld; hierbij verliepen vier kuren ovulatoir.

In groep E tenslotte werd één patiënt drie maal behandeld zonder dat ovulatie volgde.

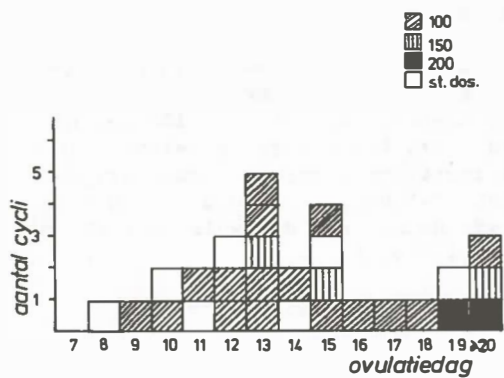


Fig. 7-4.
 Groepen A, B en C; ovulatoire cycli zonder conceptie.
 Dag waarop de ovulatie plaatsvond bij behandeling met 5 x 100 mg. clomipheen (n = 16), 5 x 150 mg. clomipheen (n = 3), 5 x 200 mg. clomipheen (n = 2) en een per cyclus verschillende stijgende dosering ("st.dos.", zie 6.2.4.) (n = 7). In zes cycli was de dag van ovulatie niet vast te stellen (a-4.1, b-8.2, c-3.2, b-4.4, b-7.3, b-10.4).

In fig. 7-4 is de vermoedelijke dag van ovulatie, gerekend vanaf de dag waarop de clomipheen toediening werd begonnen, van alle in dit opzicht beoordeelbare ovulatoir verlopen cycli zonder conceptie in de groepen A, B en C weergegeven; in fig. 7-5 hetzelfde voor de groepen D en E.

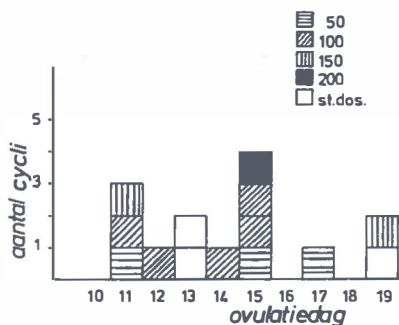


Fig. 7-5.

Groepen D en E; ovulatoire cycli zonder conceptie.

Dag waarop ovulatie plaatsvond bij behandeling met 5 x 50 mg. clomipheen (n = 3), 5 x 100 mg. clomipheen (n = 5), 5 x 150 mg. clomipheen (n = 2), 5 x 200 mg. clomipheen (n = 1) en een individueel verschillende stijgende dosering ("st.dos.", zie 6.2.4.) (n = 3). Eén maal was de dag van de ovulatie niet vast te stellen (d.1-4.2).

Bij vergelijking kwamen geen verschillen aan het licht met de cycli waarin wel conceptie optrad (toets van Kruskal en Wallis, $H = 0.092$, n.s.). Ook bij onderlinge vergelijking van de verschillende subgroepen waren er geen duidelijke verschillen. De duur van de luteale fase in de subgroepen A, B en C is weergegeven in fig. 7-6. Er zijn daarbij geen duidelijke verschillen waarneembaar bij de verschillende doses clomipheen. Slechts één cyclus vertoonde een korte luteale fase van 11 dagen (pat. c-6).

Negen cycli van patiënten uit groep B (b-2, b-5, b-6, b-7, b-8, b-10) vertoonden een luteale fase die langer dan 16 dagen duurde.

In fig. 7-7 is de duur van de luteale fase bij waarschijnlijk ovulatoire cycli zonder conceptie weergegeven, zoals die bij de patiënten met secundaire amenorrhoe

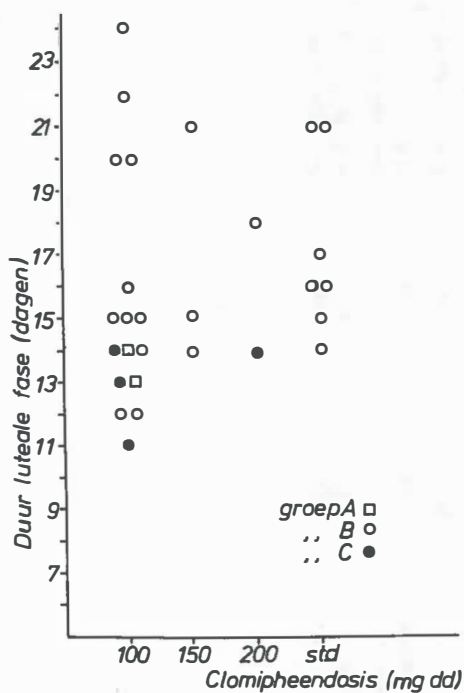


Fig. 7-6.
Groepen A, B en C. Duur van de luteale fase bij cycli zonder conceptie.

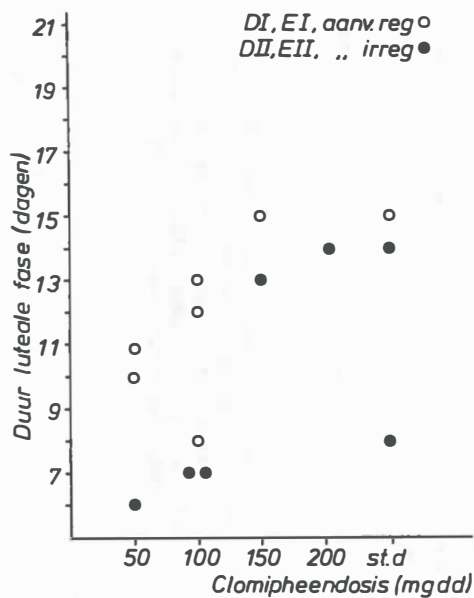


Fig. 7-7.
Groepen D en E. Duur van de luteale fase bij cycli zonder conceptie. Bij doses $< 5 \times 150$ mg. is het aantal korte luteale fasen (< 12 d.) groter dan bij hogere doses (vier velden toets $2\alpha = 0.10$).

Tabel VII-5. Peri-ovulatoire fysisch-chemische eigenschappen en in vivo spermatozoënpenertratie bij zes patiënten met oligomenorrhoe die na behandeling met clomipheen wel ovuleerden maar niet concipiëerden.

patiënt	cyclus	dag	coïtus	consistentie	Spinbaarheid cm.	kristallisatie (+++ = periovulatoire)	Sims Hühner*
b-2	1	1	+ < 12 u.	matig visceus	10-12	++ à +++	pos., non progr.
	5	-2	-	matig visceus	10	++	neg.
b-4	1	0	-	laag visceus	14	+++	pos., immobiel
	3	-2	+ < 12 u.	laag visceus	10-12	+++	pos., progr.
b-6	2	-1	+ < 12 u.	laag visceus	12-14	+++	pos., progr.
b-7	2	0	+ < 12 u.	matig visceus	10-12	+++	pos., immobiel
b-9	1	-2	-	matig visceus	10	++ à +++	neg.
	2	+1	+ > 12 u.	hoog visceus	6	+	pos., non progr.
b-10	2	0	+ < 12 u.	laag visceus	13	+++	pos., progr.
	3	+1	+ > 12 u.	laag visceus	14	+++	pos., non progr.

* penetratie van spermatozoën in het cervixslijm in vivo

neg = geen spermatozoën gezien

pos. immobiel: spermatozoën niet bewegend

pos. non progr.: spermatozoën bewegen, maar komen niet vooruit

pos. progr.: spermatozoën verplaatsen zich

(de groep D en E) werd waargenomen. Luteale fasen korter dan twaalf dagen werden voornamelijk bij deze groep patiënten gezien. In de figuur wordt onderscheid gemaakt tussen patiënten met een aanvankelijk irregulair cyclus en met een plotseling begonnen secundaire amenorrhoe. Verschillen treden echter niet aan het licht. Bij de doses clomipheen > 100 mg dd. kwamen minder korte luteale fasen voor dan bij lagere doseringen.

7.2.4. Cervicale factoren als oorzaak voor het uitblijven van conceptie.

Het longitudinale karakter van ons onderzoek maakte dat een eventuele cervicale factor als oorzaak voor het uitblijven van conceptie niet systematisch nagegaan kon worden.

Bij tien cycli waarin conceptie plaatsvond kon in de drie dagen rond de vermoedelijke ovulatiedatum een onderzoek naar penetratie van spermatozoa in het cervixslijm in vivo worden verricht (Sims-Hühner test). Hoewel in de meeste gevallen de coïtus meer dan acht uren voor het afnemen van het cervixslijm had plaatsgevonden, werden acht maal progressief bewegelijke spermatozoën in het cervixslijm gevonden.

In de tien ovulatoire cycli zonder conceptie bij patiënten met secundaire amenorrhoe, waarbij het cervixslijm peri-ovulatoir werd onderzocht, werd vier maal progressieve bewegelijkheid van spermatozoa waargenomen.

Eén maal werden in het cervixslijm geen spermatozoa gezien, hoewel wel intravaginale semendepositie had plaatsgevonden, één maal werd slechts non-progressieve bewegelijkheid gezien. Vier maal had geen coïtus plaatsgevonden. Bij drie van deze monsters werden peri-ovulatoire waarden voor de consistentie-index, de Spinnbarkeit en de varentest waargenomen, zodat in zeven van de tien cycli goed cervixslijm werd gevonden.

Bij de zes patiënten uit groep B die na clomipheen wel

ovuleerden maar niet concipiëerden, zou gedacht kunnen worden aan een cervicale factor als oorzaak voor het uitblijven van conceptie. Van deze patiënten werden tien peri-ovulatoire cervixslijm monsters onderzocht (tabel VII-5). Bij de patiënten b-2, b-7 en b-9 werden minder goede fysisch-chemische eigenschappen in het cervixslijm en onvoldoende spermatozoënpenertratie gevonden. Van acht bij andere patiënten uit de groepen B en C die wel concipiëerden genomen peri-ovulatoire cervixslijm monsters vertoonden er vijf een te taaie consistentie en een te geringe Spinnbaarheid.

De indruk wordt gewekt dat bij de patiënten met oligomenorrhoe vaak cervixslijm met niet-optimale fysisch-chemische eigenschappen in de periode kort voor de ovulatie werd waargenomen, maar het aantal waarnemingen was te gering voor nadere analyse.

De relatie tussen de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm en de oestradiol spiegel van het plasma kon om dezelfde reden evenmin worden vastgesteld.

7.2.5. Uitblijven van ovulatie.

In 7.2.2. kwam reeds ter sprake, dat in groep B het uitblijven van conceptie niet kon worden geweten aan anovulatie na clomipheen toediening. Dit is wel zo in de groepen met extreme oligomenorrhoe en met secundaire amenorrhoe.

Van de zes patiënten met extreme oligomenorrhoe (groep C) die niet concipiëerden na behandeling met clomipheen waren er slechts twee, die één of meer malen ovuleerden. Twaalf van de zestien clomipheen kuren werden niet door ovulatie gevolgd.

Bij de zes patiënten met secundaire amenorrhoe die na clomipheen niet zwanger werden, lagen de getallen ongeveer identiek. Ook hier reageerden twee patiënten af en toe ovulatoir; van de 18 keer dat clomipheen werd gegeven, verliepen vier cycli ovulatoir.

Tabel VII-6.

A. Patiënten die wegens falen van clomipheen behandeling een bilaterale wigexcisie uit de ovaria ondergingen.

patiënt	clomipheenkuren		wigexcisie verricht in	resultaat
	ovul.	anovul.		
b-2	6	0	mei 1976	gravida juli '76
b-9	4	0	april '75 (Frankrijk)	gravida sept. '75
c-7*	0	3	mei '76	regulaire ovulatoire cyclus tot okt. '76
c-8	0	3	oktober '75	anov. cyclus → 1x clomipheen → gravida jan. '76
c-9	1	0	oktober '74	regulaire ovulatoire cyclus tot okt. '76
d.2-6	2	3	mei '74	gravida aug. '74

* gravida febr. '77.

B. Patiënten die wegens falen van clomipheen behandeling met gonadotropinen preparaten (HMG/HCG) werden behandeld.

patiënt	clomipheenkuren		aantal HMG/HCG kuren	resultaat
	ovul.	anovul.		
c-1	0	2	3	3 maal hypostimulatie
c-2	0	4	2	2 maal geen reactie
c-7	0	> 3	1	hyperstimulatie
d.1-3	0	3	2	2 maal normaal ovulatoir, geen conceptie
d.2-3	2	0	1	gravida: abortus
d.2-4	0	4	1	gravida: abortus
e.1-4	0	3	1	gravida

7.3. Alternatieven bij falen van de clomipheentherapie

Wanneer behandeling met clomipheen, eventueel aangevuld met dieetmaatregelen of andere additionele therapie, niet tot zwangerschap voerde, werd naar alternatieven gezocht.

7.3.1. Wigexcisie uit de ovaria.

Wanneer in de loop van de diagnostiek duidelijk was geworden, dat in de ovaria een overmaat androgeen werd geproduceerd (enzym-histochemisch onderzoek van ovarium-biopsen, testosteron spiegels, DXM/HCG test) en de reactie na clomipheen toediening uitbleef of onvoldoende was, werd overgegaan tot het verrichten van een bilaterale wigexcisie uit de ovaria.

De betreffende patiënten en het operatieresultaat staan vermeld in tabel VII-6A.

Drie van de zes patiënten hebben na de ingreep spontaan geconciпиëerd. Een vierde werd zwanger nadat één maal een clomipheen kuur was toegediend. Alle zwangerschappen vertoonden of vertonen een normaal verloop.[□]

Bij één patiënt werd de ingreep verricht omdat zij sterk vergrote ovaria had die ernstige buikklachten gaven en waarbij aan recidiverende partiële steeldraai werd gedacht (c-9). Na de ingreep was zij geheel klachtenvrij. Zij kreeg een regulaire cyclus met bifasische BTC. Helaas trad geen conceptie op, mogelijk doordat adhaesies zijn ontstaan.

[□] Ook patiënt c-7 heeft acht maanden na de wigexcisie geconciпиëerd (februari 1977). Dit resultaat werd niet in de berekeningen opgenomen.

7.3.2. Behandeling met gonadotropinen extracten.

Bij zeven patiënten werd geprobeerd met behulp van humaan menopausaal gonadotropine (HMG, Humegon®) en HCG (Pregnyl®) een ovulatie te induceren (tabel VII-6B). De enig juiste indicatie voor deze behandeling is hypogonadotrope amenorrhoe. Twee patiënten (d.1-3 en e.1-4) hebben goed op de behandeling gereageerd. Patiënt e.1-4 werd gravida bij de eerste behandeling. Er vond lichte hyperstimulatie plaats en zij beviel in de 36e week van een tweeling na een graviditeit die door bloedverlies in het derde trimester werd gecompliseerd. Patiënt d.1-3 heeft inmiddels twee behandelingen met HMG en HCG ondergaan, waarbij beide keren een normale ovulatie optrad. Bij drie patiënten uit groep C was er geen sprake van een tekort aan gonadotropinen, maar vormde het volkomen ontbreken van reactie na clomipheen toediening de indicatie tot gonadotropinen behandeling. Bij patiënt c-7 werd tijdens de toediening van HMG (150 E dd. gedurende acht dagen) een normale reactie van het plasma-oestradiol gezien, maar na toediening van de ovulatiedosis HCG (10.000 IE) werd duidelijk dat een ernstige hyperstimulatie was opgetreden, die klinisch werd geobserveerd.

Bij de beide andere patiënten uit groep C (c-1 en c-2) was de reactie op meerdere inductiepogingen onvoldoende. In de ovulatoire cycli van patiënt c-1 werden in de periode na HCG toediening te lage waarden voor de pregnaandiol en pregnaantriol excretie gevonden. Tenslotte werden twee patiënten uit groep D^{II} met gonadotropinen preparaten behandeld. Beide patiënten (d.2-3 en d.2-4) concipiëerden bij de door HMG en HCG geïnduceerde ovulatie, maar beide keren kwam het tot vroege abortus.

7.3.3. Behandeling bij hyperprolactinaemie.

Na de behandeling met HMG en HCG werd bij patiënt d.2-3

een lichte bilaterale galactorrhoe vastgesteld. Patiënt d.2-4 klaagde al enige tijd vóór de HMG behandeling over migraine-achtige hoofdpijnen, die na de ovulatie inductie in frequentie en hevigheid toenamen.

Juist in die tijd (voorjaar 1976) was in onze kliniek voldoende ervaring opgedaan met een bepaling van het prolactine gehalte in het bloed van zwangeren (17) om deze ook bij niet-zwangeren toe te passen.

De bepaling is van het double antibody type, met een tweede antilichaam aan een vaste fase (7,17). De reagentia worden commercieel verkregen (C.I.S., Gif sur Yvette, Frankrijk). De gevoeligheid is 2 ng/ml., de reproduceerbaarheid (bepaald als variatiecoëfficiënt van onafhankelijke duplo bepalingen) voor hoge waarden (95 ng prolactine per ml.) 8% in 24 bepalingen en voor lage waarden (25 ng/ml.) 10% in 15 bepalingen. Kruisreactie van LH, FSH, TSH en HCG treedt niet op, die met GH is te verwaarlozen. De specifieke binding is vrijwel steeds < 0.4%.

De gevonden waarden worden uitgedrukt in ng/ml. van het commerciële referentiepreparaat van Calbiochem, waarvan opgegeven wordt dat 1 ng Calbiochem standaard = 40 μ U van de MRC standaard = 1 ng van de NIH standaard. Als bovengrens van de normale waarde wordt, overeenkomstig de gegevens uit de literatuur, 20 ng/ml. plasma/serum aangehouden (17,18).

Bij beide bovengenoemde patiënten werd een hyperprolactinaemie aangetoond. Patiënt d.2-3 vertoonde serum-prolactine waarden boven 100 ng/ml., patiënt d.2-4 waarden van 60 à 80 ng/ml. Stimulatie- en suppressietests van het prolactine en het dopaminerge systeem werden niet gedaan. Teneinde een hypofyse adenoom zoveel mogelijk uit te sluiten werd bij beide patiënten een nauwkeurige tomografie van de sella turcica verricht, met planigrafische sneden om de 2 mm. (Radiologisch Instituut, Hoofd Prof. Dr. J.R. Blickman). Het oogheelkundig onder-

zoek werd herhaald en de beide patiënten werden nogmaals uitvoerig lichamelijk onderzocht teneinde uitvalsverschijnselen van de hypofyse op het spoor te komen. Op geen enkele wijze konden aanwijzingen voor een hypofyse tumor worden gevonden.

Vervolgens werd een behandeling ingezet met de dopamine antagonist α bromoergocryptine (5,16) (Parlodel®) in een dosering van 2.5 mg. per dag in de eerste week en 2 x 2.5 mg. per dag vanaf de tweede week.

Patiënt d.2-3 heeft drie weken na het begin van de behandeling geconcipteerd. De zwangerschap werd elders gecontroleerd en verliep voorspoedig. Patiënt d.2-4 heeft in twee perioden van zes weken behandeling niet geovuleerd ondanks een normalisering van de plasma-prolactine waarden. Na een onderbreking van enkele maanden is de therapie in november 1976 hervat.

7.4. Bespreking van de uiteindelijke resultaten

7.4.1. Resultaten ten aanzien van normale zwangerschappen.

Uitsluitend door behandeling met clomipheen kregen van de 23 patiënten uit de groepen A, B en C, dus met een hogere of lagere frequentie van vaginaal bloedverlies, vijf vrouwen een normale zwangerschap. Van de 17 patiënten met secundaire amenorrhoe, de groepen D en E, was dit het geval bij tien vrouwen. Dit verschil heeft betekenis, gezien de uitslag van de vier velden toets ($2\alpha = 0.05$). Slechts één van de zwangeren uit de groepen A, B en C was elders met clomipheen behandeld.

Met additionele maatregelen of door alternatieve therapie gelukte het bij nog zes patiënten uit de groepen A, B en C en bij vier patiënten uit de groepen D en E een normale zwangerschap te verkrijgen; respectievelijk

vijf en drie patiënten waren eerder met clomipheen behandeld. Het verschil in uiteindelijk resultaat tussen enerzijds de groepen A, B en C en anderzijds de groepen D en E bleek hierna nog aanwezig te zijn, zij het minder duidelijk dan eerst (vier velden toets $0.10 < 2\alpha < 0.05$).

Het bleek niet goed mogelijk om met statistische methoden na te gaan, welke van de subgroepen het meest tot bovenstaande uitkomst bijdroegen.

De gegevens doen vermoeden, dat vooral het goede resultaat bij de patiënten met post pil amenorrhoe en het relatief slechte resultaat bij de patiënten uit groep B er de oorzaak van zijn.

7.4.2. Spontane abortus.

Spontane abortus na behandeling met clomipheen, al dan niet met additionele behandeling, kwam vijf maal voor. In totaal trad acht maal een histologisch geverifiëerde abortus op, uitsluitend bij patiënten met een primair irregulaire cyclus.

Vergelijking met de groep patiënten met een primair regulaire cyclus door middel van de vier velden toets levert een verschil op met een onbetrouwbaarheid $0.10 < \alpha < 0.05$, hetgeen doet vermoeden dat dit verschil geen toeval is.

7.4.3. Ovulatie zonder conceptie.

Patiënten die na toediening van clomipheen vrijwel steeds ovuleerden, maar waarbij het niet tot conceptie kwa, werden voornamelijk in groep B gevonden (vijf van tien patiënten). In groep C en groep D werd dit steeds bij één patiënt van de negen, respectievelijk elf patiënten gezien (c-3 en d.2-3). In alle gevallen ging het om patiënten met een primair irregulaire cyclus. Een korte luteale fase na toediening van een hoge dosis clomipheen kwam alleen voor bij patiënt d.2-3, de

in 7.3.5 besproken patiënt met hyperprolactinaemie. Deze patiënt had steeds een laag niveau van het serum-LH. Ook bij de andere patiënten die na toediening van clomipheen korte luteale fasen vertoonden lag het basale serum-LH laag of laag-normaal, met één uitzondering, patiënt c-6.

7.4.4. Uitblijven van ovulatie.

Bij vier patiënten uit groep C werden na behandeling met clomipheen in het geheel geen ovulaties waargenomen.

Twee van deze patiënten vertoonden hirsutisme (c-7 en c-8) en hebben goed gereageerd op een bilaterale wigexcisie uit de ovaria. Bij de twee andere patiënten (c-1 en c-2) heeft ook behandeling met gonadotropinen niet tot conceptie geleid. Bij beiden werden later hoge serum-FSH waarden gevonden, waardoor een ovariële genese van de menstruatiestoornissen aannemelijk werd. Bij deze patiënten moet echter worden geconcludeerd, dat de oorzaak van de cyclusstoornis niet kon worden opgehelderd. Ditzelfde geldt voor patiënt d.2-4, bij wie weliswaar een hyperprolactinaemie werd vastgesteld, maar die niet reageerde op bromocryptine behandeling, waarbij het serum-prolactine normaal werd.

De overige patiënten (d.1-2, d.1-3 en e.1-4) waren hypogonadotroop, vooral wat betreft het LH, en hadden ondergewicht.

7.5. Neveneffecten van clomipheen - hyperstimulatie

Door bijna alle patiënten werden tijdens de periode waarin zij clomipheen gebruikten lichte bijwerkingen waargenomen, meestal in de vorm van "hot flushes". Opmerkelijk genoeg was dit veel minder het geval bij pa-

tiënten die niet met een ovulatie reageerden. Helaas werd niet altijd naar het vóórkomen van het verschijnsel gevraagd, zodat een eventueel verschil met wél reagerende patiënten niet nader kon worden onderzocht. Hetzelfde geldt voor mastalgie (pijnlijke mammae), een klacht die naar het zich liet aanzien vaker werd geuit door patiënten uit de groepen A, B en C. Visusstoornissen kwamen ook bij gebruik van hoge doseringen, alleen in zeer lichte vorm (flikkerscotomen) voor. Een matige vergroting van de ovaria, vooral in de luteale fase, werd waargenomen bij de meeste ovulatoire cycli in de groepen A, B en C en bij de patiënten in groep D^{II}. Spontane buikklachten waren daarbij echter zeldzaam (patiënten b-3, tweede cyclus; b-6, tweede cyclus; d.1-5, tweede cyclus; d.2-2, derde cyclus; e.1-2 derde cyclus). In deze gevallen bestond dus lichte klinische hyperstimulatie, die geen ernstige consequenties had. Bij geen van deze patiënten werden in de betreffende cycli andere klachten of verschijnselen dan buikpijn en vergrote, bij palpatie drukgevoelige ovaria waargenomen. Met name waren er geen mictie- of defaecatiestoornissen en was er geen vrij vocht in het abdomen aantoonbaar. Stoornissen in de elektrolyten huishouding of haemoconcentratie werden niet gezien. Misselijkheid en braken traden op bij patiënt c-9, die deze klachten ook langere tijd na de (eenmalige) clomipheen behandeling bleef vertonen. Tenslotte werd, zoals vermeld, een bilaterale wigexcisie uit de ovaria genomen, waarna de cyclus regulair werd en de klachten geheel verdwenen.

7.6. De fertiliteitsprognose bij vrouwen met anovulatie

De bij deze groep vrouwen met ovulatiestoornissen behaalde resultaten zijn niet representatief voor alle

vrouwen met anovulatoire infertiliteit. In onze serie hadden de patiënten met oligomenorrhoe een slechtere prognose voor het verkrijgen van een normale zwangerschap dan de patiënten met een secundaire amenorrhoe. Vrijwel al deze patiënten vertoonden al vanaf de menarche een abnormale cyclus. Gedacht werd, dat afgezien daarvan de factoren hirsutisme en adipositas een rol zouden spelen in de fertiliteitsprognose, omdat deze vooral bij primair irregulaire patiënten voor bleken te komen (6.4.6.). Na uitsluitend behandeling met clomipheen ontstonden vier normale zwangerschappen bij 17 patiënten met adipositas en/of hirsutisme; vermagering, toediening van lage doses glucocorticoiden en bilaterale wigexcisie uit de ovaria resulteerde in deze groep in nog zes normale graviditeiten. Dit succes bleek echter op toeval te kunnen berusten, omdat ook bij de primair irregulaire patiënten zonder hirsutisme of adipositas, waarvan er drie concipiëerden na behandeling met alléén clomipheen, drie normale zwangerschappen werden verkregen na alternatieve therapie (χ^2 test (onder voorbehoud, daar te lage verwachte frequenties voorkwamen): $\chi^2 = 0.34$, $v = 2$, n.s.).

Ook vergelijking van de resultaten bij alle patiënten met adipositas en/of hirsutisme met die bij alle patiënten zonder deze bijverschijnselen leverde geen verschil van betekenis op ($\chi^2 = 0.94$, $v = 2$, n.s.).

De resultaten bij de patiënten met secundaire amenorrhoe werden vooral gunstig beïnvloed door de patiënten met een post pil amenorrhoe, die allen concipiëerden.

Vijf van de zes patiënten hadden vóór zij hormonale contraceptie gingen gebruiken een regulaire cyclus. Zij onderscheidden zich niet van de overige patiënten met een secundaire amenorrhoe en een primair regulaire cyclus en ook bij deze patiënten bleek de fertiliteitsprognose goed.

Conceptie bij een door clomipheen behandeling geïndu-

ceerde ovulatie werd niet gezien bij patiënten met ondergewicht. Twee patiënten met ondergewicht en secundaire amenorrhoe werden niet zwanger in de periode waarover het onderzoek zich uitstreckte.

Ondergewicht lijkt dus de prognose voor het verkrijgen van een zwangerschap negatief te beïnvloeden.

Het is echter waarschijnlijk dat de fertiliteitsprognose voornamelijk afhangt van de verhoudingen in de hypothalamo-hypofyseo-ovariële as. Uit de literatuur was al gebleken, dat patiënten met normale gonadotropinen, normale oestrogeen en 18 ketosteroid excretie de beste kans maken op een geslaagde ovulatie inductie met clomipheen. In grote lijnen wordt deze opvatting door de resultaten van ons onderzoek bevestigd. Patiënten met een hoog FSH werden niet behandeld, evenmin patiënten met evidente afwijkingen buiten de hypothalamo-hypofyseo-ovariële as. Wat de integriteit van deze laatste betreft, werd reactiviteit, tenminste tot uiting komend in een LH reactie na toediening van progesteron (6.2.1.) geëist. Bij de patiënten d.1-1, d.1-2 en e.1-4 was deze reactie dubieus.

De genoemde drie patiënten hadden een laag LH niveau en ondergewicht; zij ovuleerden niet, toen clomipheen werd toegediend. In tabel VII-7A worden de resultaten in termen van een normale zwangerschap na behandeling met alléén clomipheen (7.4.1.) vergeleken tussen de patiënten met lage en laag-normale, normale en hoog-normale en hoge LH niveaus door middel van de χ^2 test.

Een laag niveau van het serum-LH werd aangenomen, wanneer alle bij het oriënterend onderzoek gemeten LH-waarden lager waren dan de laagste waarde van het 95% betrouwbaarheidsinterval in de follikelfase van de referentie cycli (7 mE/ml.); laag-normaal was het niveau, wanneer ook binnen het 95% betrouwbaarheidsinterval liggende waarden werden gemeten.

Op dezelfde wijze werd een hoog LH niveau aangenomen,

wanneer alle gemeten waarden in de oriëntatie hoger waren dan 40 mE/ml. en een hoog-normaal niveau, wanneer ook normale waarden werden gemeten.

De groep patiënten met laag en laag-normale LH is eigenlijk te klein. Het verschil tussen waargenomen en verwachte frequenties is in deze groep echter zo gering, dat de bijdragen aan χ^2 te verwaarlozen zijn. Het blijkt, dat in de groep met normale LH niveaus meer patiënten concipiëerden dan te verwachten was, en in de groep met hoge en hoog-normale LH niveaus minder; deze patiënten hadden met clomipheen een minder grote kans op conceptie dan patiënten met een normaal LH.

Tabel VII-7A.

De uitkomst van clomipheen behandeling in termen van voldragen zwangerschap bij patiënten met lage, normale en hoge LH niveaus.

	gravida		niet-gravida		
	waargenomen aantal	verwacht aantal	waargenomen aantal	verwacht aantal	
LH laag en laag-normaal	2	2.25	4	3.75	6
LH normaal	10	6	6	10	16
LH hoog en hoog-normaal	3	6.75	15	11.25	18
	15		25		40

$$\begin{aligned}\chi^2 &= 7.64 \\ v &= 2 \\ \alpha &< 0.025\end{aligned}$$

Deze kans verbeterde duidelijk onder additionele therapie bij clomipheen of door andere behandeling. In tabel VII-7B wordt het uiteindelijke resultaat van alle behandelingen weergegeven, wederom in onderlinge vergelijking van de groepen met lage, normale en hoge LH niveaus. Er is nu geen verschil meer aantoonbaar.

Op dezelfde wijze werd de reactie op clomipheen bij patiënten met lage FSH en laag-normale FSH niveaus (laagste waarden lager dan 3 mE/ml., hoogste waarden hoger) vergeleken bij patiënten met normale FSH's.

Er waren achttien patiënten met lage of laag-normale FSH niveaus, waarvan er vier een normale zwangerschap kregen na behandeling met clomipheen alléén. Elf van tweeëntwintig patiënten met een normaal FSH concipiëerden na clomipheen therapie. $\chi^2 = 3.26$, $0.10 < \alpha < 0.05$. Het totale behandelingsresultaat van de achttien patiënten met laag of laag-normaal FSH levert geen verschil meer op met dat van de patiënten met normaal FSH.

Tabel VII-7B.

De uitkomst van alle behandelingen samen in termen van voldragen zwangerschap bij patiënten met lage, normale en hoge LH niveaus.

	gravida		niet-gravida		
	waargenomen aantal	verwacht aantal	waargenomen aantal	verwacht aantal	
LH laag en laag-normaal	4	3.7	2	2.3	6
LH normaal	11	10	5	6	16
LH hoog en hoog-normaal	10	11.3	8	6.7	18
	25		15		40

$$\chi^2 = 0.73$$

$$v = 2$$

$$n.s.$$

Hier bleek dus, dat de patiënten met een laag en laag-normaal FSH niveau door behandeling met alléén clomipheen minder kans hadden om zwanger te worden dan patiënten met normaal FSH. De uiteindelijke kans op zwangerschap, door aanvullende of alternatieve therapie, verschilde echter niet.

Er bleken geen verschillen aantoonbaar tussen de patiënten met hoge en met normale excretie van 17 ketosteroiden en evenmin tussen patiënten met een gemiddeld niveau van het plasma-oestradiol > 100 pg/ml. en patiënten met een lager niveau (respectievelijk $\chi^2 = 1.1$ en $\chi^2 = 0.35$). In conclusie bleken dus patiënten met ondergewicht een geringe kans te hebben om na behandeling met clomipheen te concipiëren. Een goede prognose hadden patiënten met normale FSH's en patiënten met normale LH niveaus. Lage en laag-normale FSH niveaus en hoog-normale en hoge LH niveaus bleken de kans op conceptie na behandeling met alléén clomipheen te verminderen ten opzichte van de normale groepen, maar de uiteindelijke fertiliteitsprognose bleek niet te verschillen. Patiënten met de combinatie laag (normaal) FSH/hoog (normaal) LH kwamen alleen voor in de groepen A, B en C (patiënten a-4, b-2, b-5, b-8, b-9, c-3, c-4, c-5, c-7, c-8). Slechts twee van deze patiënten vertoonden geen adipositas en/of hirsutisme (6.4.4. en 6.4.6): b-2 en b-5. Alleen de patiënten a-4 en c-5 concipiëerden na behandeling met alléén clomipheen in hoge doses. Het is aannemelijk, dat de beschreven afwijkingen in de basale gonadotropinen spiegels de minder goede resultaten van behandeling met clomipheen in belangrijke mate verklaren.

Literatuur

1. Baird D.T., Uno A., Melby J.C., J.Endocrinol. 45: 135, 1969.
2. Barton M., Wiesner P.B., Lancet ii:671, 1945.
3. Beck K.J., Budde O., Neuhaus A., Seifert K.F., Arch. Gynäkol. 210:76, 1971.
4. Billings E.L., Billings J.J., Brown J.B., Burger H.G., Lancet i:282, 1972.
5. Corbey R.S., Secundaire amenorrhoe en prolactine. Proefschrift, Nijmegen, 1976. p. 107.
6. Davis M.E., JAMA 130:929, 1946.
7. Friese S., Enkele aspecten van de water- en zouthuishouding in de zwangerschap. Proefschrift, Groningen, 1977.
8. Israel S.L., Schneller O., Fertil.Steril. 1:53, 1950.
9. Kremer J., The in vitro spermatozoal penetration test in fertility investigation. Thesis, Groningen. 1968.
10. Kroeks M.V.A.M., Cervixslijm. Proefschrift Utrecht, 1976.
11. MacDonald P.C., Rombout R.P., Siiteri P.K., J.Clin. Endocrinol.Metab. 27:1103, 1967.
12. Moghissi K.S., Syner F.N., Evans T.N., Am.J.Obstet. Gynecol. 114:405, 1972.
13. Morris N.M., Underwood L.E., Easterling W., Fertil. Steril. 27:780, 1976.
14. Plotz J., Geburtsh.Frauenhkl. 8:842, 1948.
15. Poortman J., Geslachtshormonen en mammacarcinoom. Proefschrift Utrecht, 1974.
16. Pozo E. del, Varga L., Wyss M., Tolis G., Friesen H., Wenner R., Vetter L., Kettwiler A., J.Clin.Endocrinol.Metab. 39:18, 1974.
17. Reuter A.M., Kennes F., Gevaert Y., Franchimont P.,

Pathol.Biol. 23:761, 1975.

18. Rothchild I., Barnes A.C., Endocrinology 50:485, 1952.
19. Schuurs A.H.W.M., Wijngaarden C.J. van, Acta Endocrinol.Kbh.suppl. 141:12, 1970.
20. Whitelaw M.J., Kalman C.F., Grams L.R., Am.J.Obstet. Gynecol. 107:865, 1970.
21. Zuspan F.P., Rao P., Am.J.Obstet.Gynecol. 118:671, 1974.

VIII

Het verloop van oestradiol, LH, FSH en de excretie van pregnaandiol en pregnaantriol in door clomipheen geïnduceerde cycli

8.1 Inleiding

De uitkomsten van het oriënterend onderzoek (hoofdstuk VI) en de behandelingsresultaten die in hoofdstuk VII werden beschreven waren aanleiding tot een indeling van de patiënten in groepen met verschillende patronen van de gonadotropinen secretie. De hoogte van het serum-LH bleek een goede parameter te zijn om het resultaat van behandeling met clomipheen te voorspellen, maar ook het FSH niveau had daarvoor betekenis. In dit hoofdstuk zullen de hormoonwaarden die in de loop van door clomipheen geïnduceerde ovulatoire cycli werden gemeten vergeleken worden met de in hoofdstuk V besproken waarden die bij spontaan optredende cycli van fertiele vrouwen gevonden werden. Alleen de 51 cycli waarin voldoende gegevens verzameld werden (tabellen VII, 1-4) worden in de beschouwing opgenomen. Achtereenvolgens worden de cycli met conceptie die door een voldragen zwangerschap werden gevolgd, de conceptiecycli waarbij de zwangerschap in abortus eindigde en groepen ovulatoire cycli zonder conceptie besproken.

Een verdeling in patiënten met een hoog (> 40 mE/ml.) en een laag LH niveau (< 7 mE/ml.) is aangebracht op grond van het bij de eerste oriëntatie gevonden LH niveau. Een laag-normaal niveau werd aangenomen, wan-

neer behalve te lage LH waarden ook binnen het normale gebied liggende waarden werden gemeten, een hoog-normaal niveau wanneer naast te hoge waarden ook normale waarden voorkwamen. Eén patiënt (b-10) is ondergebracht in een groep met hoog-normaal LH niveau, omdat zij dit had vóór vermagering. Nadien werden lage LH waarden gevonden.

Voor het FSH, dat vrijwel steeds binnen de normale grenzen (4-11 mE/ml.) was, is een dergelijke verdeling minder zinvol. Omdat bij de patiënten met adipositas en/of hirsutisme een relatief laag FSH niveau werd gevonden, worden zij apart beschouwd.

Tenslotte wordt onderscheid gemaakt tussen de cycli waarin de normale, door de fabrikant aanbevolen doses werden toegediend en cycli die optraden na behandeling met hogere clomipheen doseringen.

Door deze onderverdeling ontstaan kleine groepen, die zich niet lenen voor statistische analyse. Daarom is gekozen voor een visuele presentatie in figuren en in tabellen, waarbij in een commentaar aandacht wordt besteed aan in de individuele cycli of in de groep voorkomende bijzondere verschijnselen.

De patiënten worden aangeduid door de nummering uit tabel VI-1. Indien daar een nummer achter staat, geeft dit het nummer van de onderzochte cyclus (tabel VII, 1-4) aan.

In de figuren is evenals in hoofdstuk V dag 0 de dag van de vermoedelijke ovulatie.

Conceptiecycli van patiënten met laag normaal en normaal LH

Tabel VIII-1. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

cyclus	dag 1			dag 3			dag 5			dosis
	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	
e.1-3.1	4.7	11.4	40	3.6	18.8	135	2.3	9.9	228	5 x 50
e.2-1.1	3.7	11.8	115	5.8	31.7	189	4.3	28.6	225	5 x 50
e.1-5.1	4.1	24.6	80	5.2	30.7	144	4.7	34.8	195	5 x100

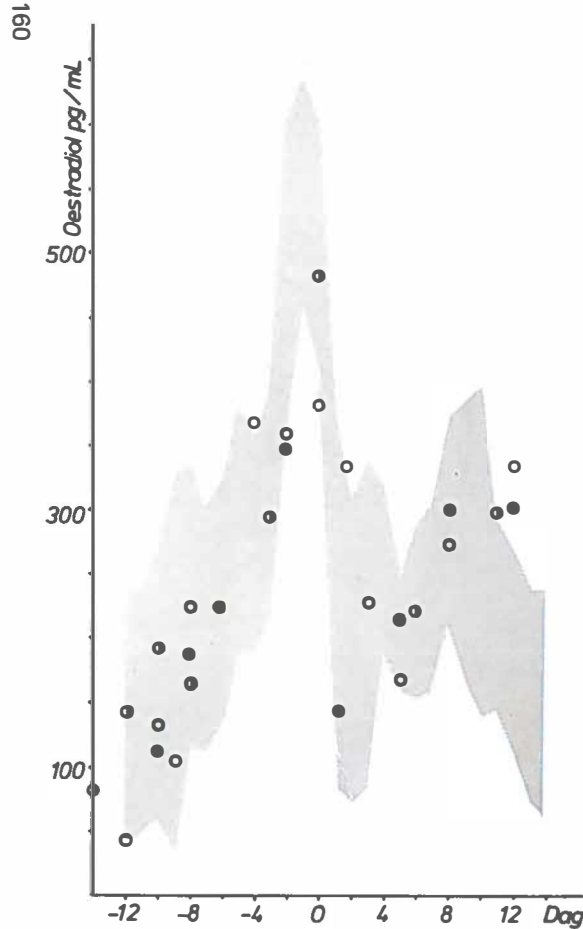
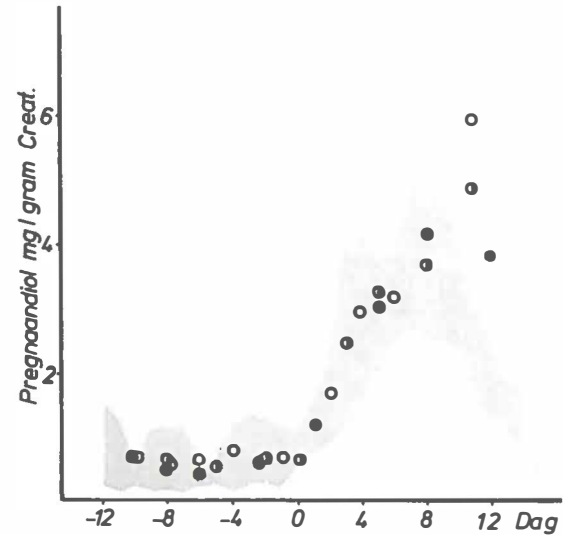


Fig. 8-1^b
Het verloop van
de pregnaandiol
excretie.



Legenda:

- = e.1-3
- = e.1-5
- ◐ = e.2-1

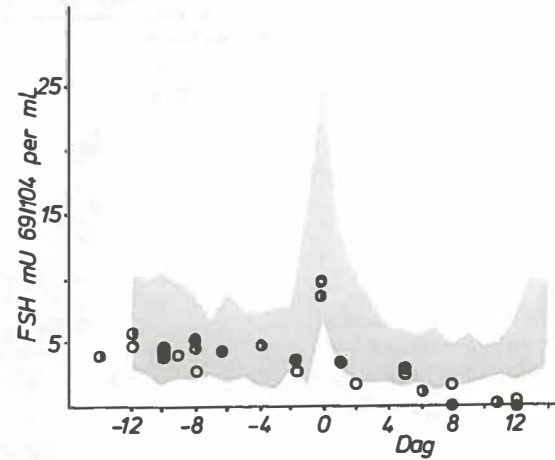
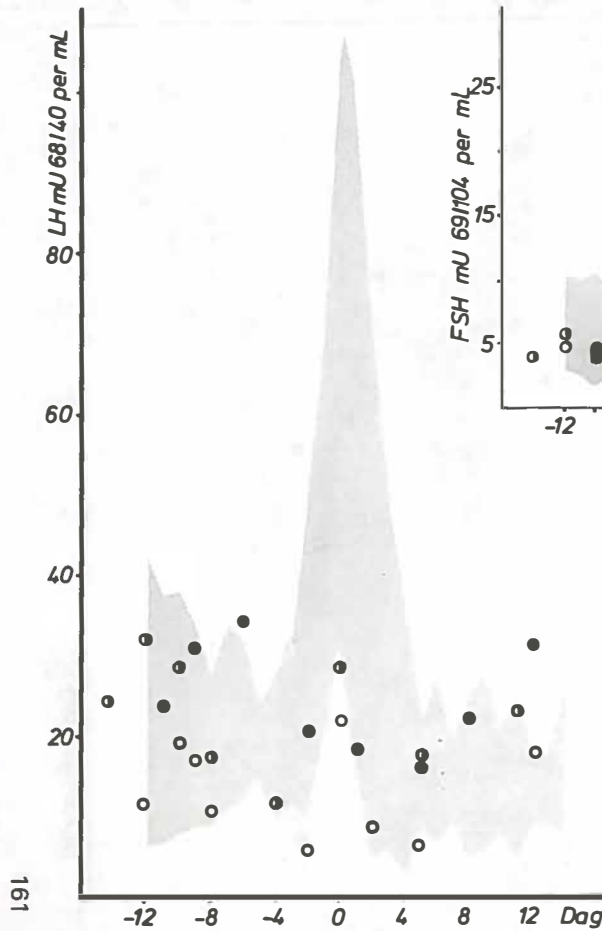
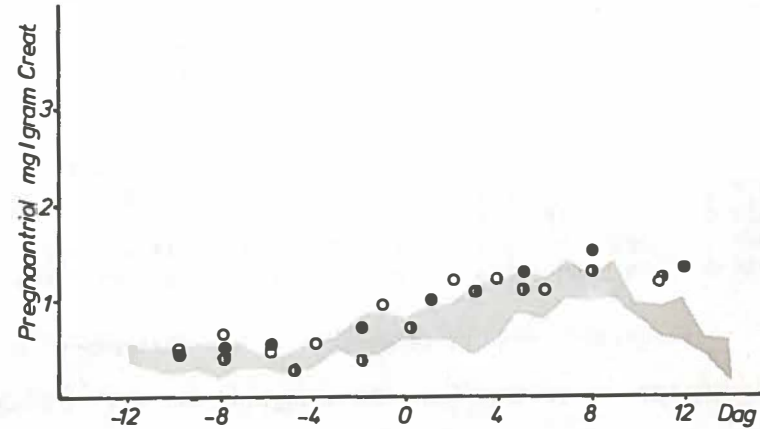


Fig. 8-1.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.



Conceptiecycli van patiënten met hoog-normaal en hoog LH.

Tabel VIII-2. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

cyclus	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	dosis
b-1.2	2.1	18.6	114	6.2	21.6	119	8.9	28.7	122	↑ dos. □
c-4.1	7.5	32.1	53	-	-	-	6.3	44.9	168	5 x100
c-6.2	3.7	36.2	79	4.1	46.2	139	4.6	59.1	169	↑ dos. □

□ 50, 50, 100, 100, 150 mg clomipheen per dag.

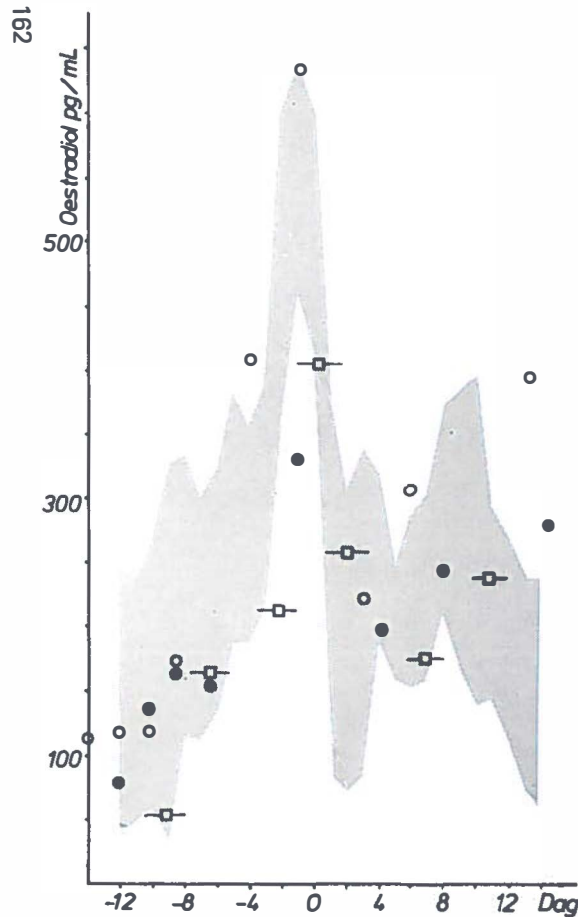
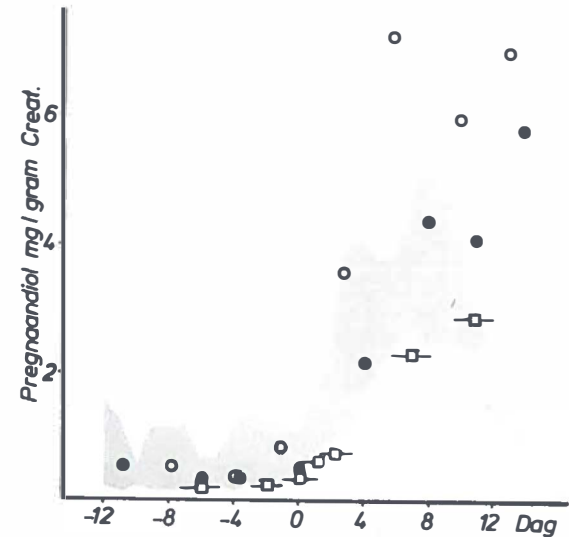
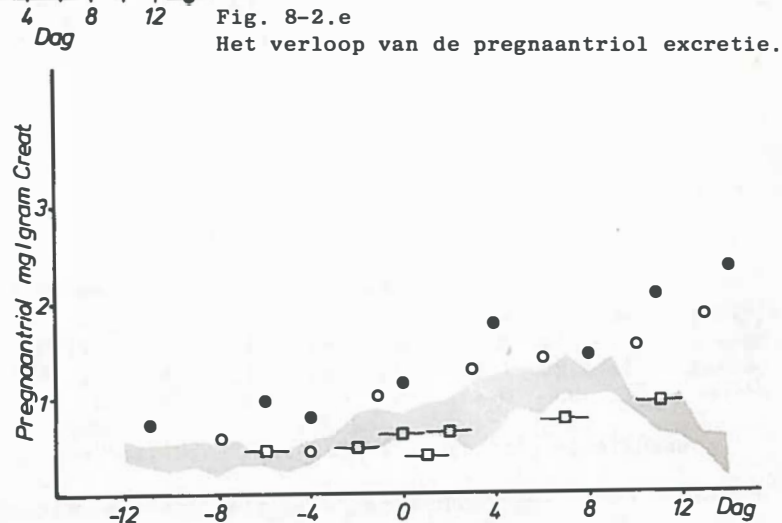
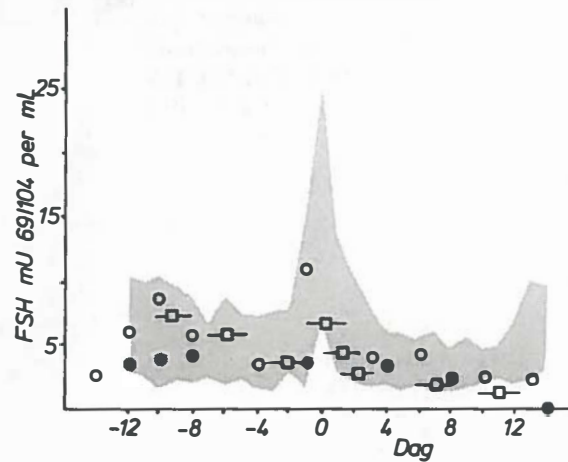
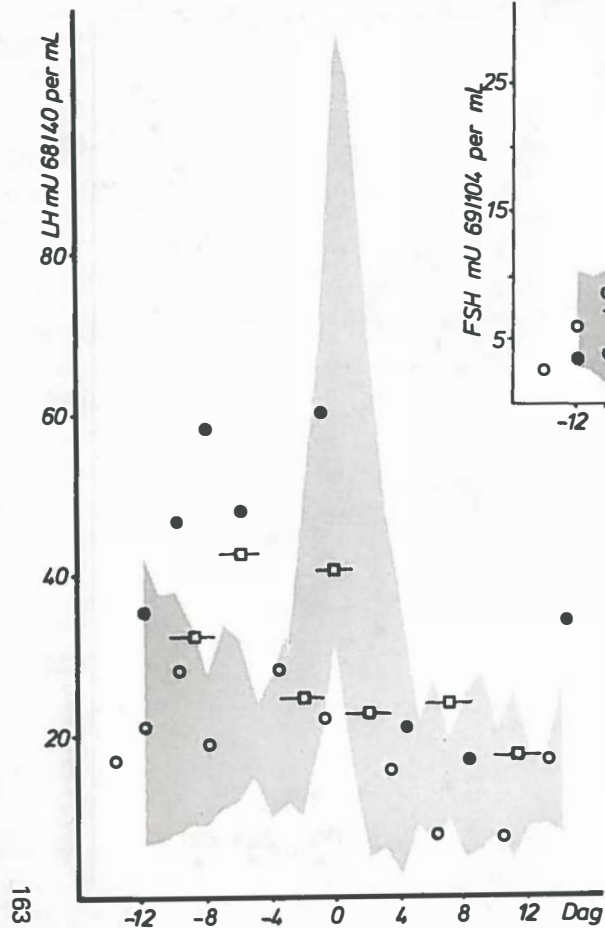


Fig. 8-2^b
Het verloop van
de prenaandiol
excretie.





Legenda

○ = b-1

□ = c-4

● = c-6

Conceptiecycli van patiënten met adipositas.

Tabel VIII-3. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

	dag 1			dag 3			dag 5			
cyclus	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	dosis
a-1.2	3.2	7.9	66	5.2	16.8	112	4.7	23.9	185	5 x100
c-5.4	4.3	44.5	97	4.3	58.9	199	6.2	56.6	111	5 x250
d.1-5.2	4.1	-	-	-	-	-	9.9	41.1	222	↑ dos. [□]

[□] 3 x 100, 2 x 200 mg clomipheen per dag

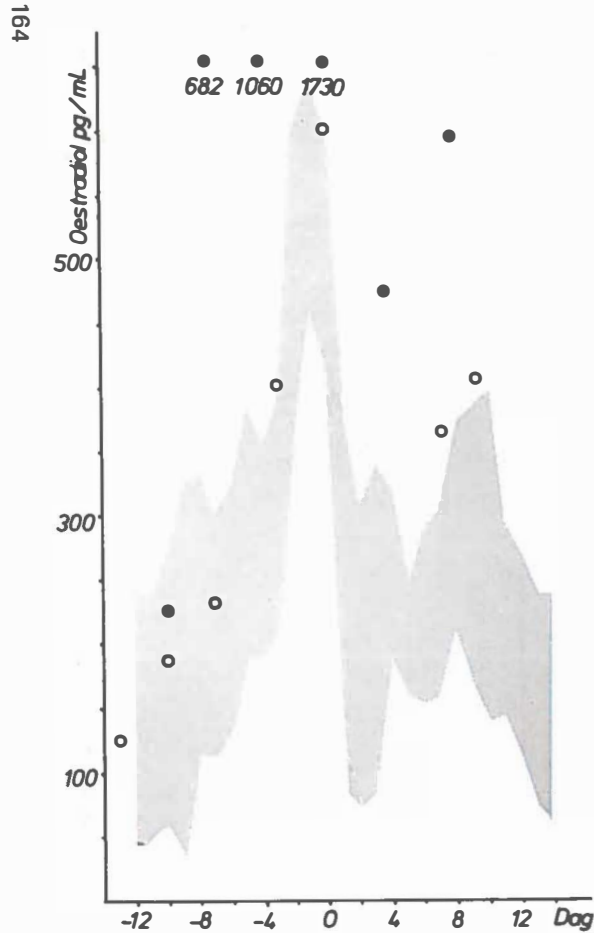
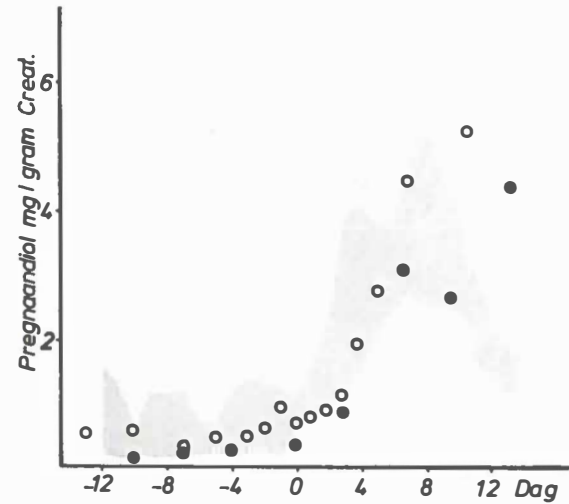


Fig. 8-3^b
Het verloop van
de prenaandiol
excretie.



Legenda

- = a-1
● = dl-5

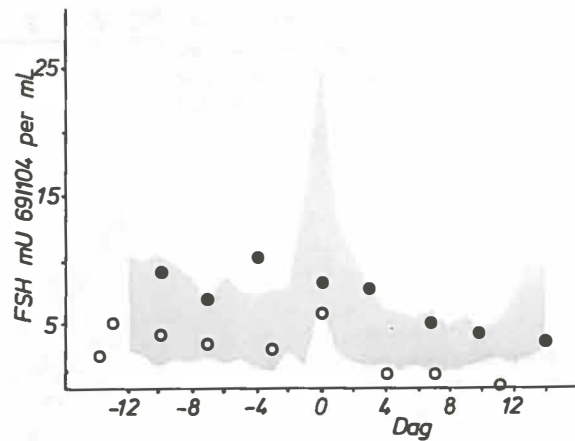
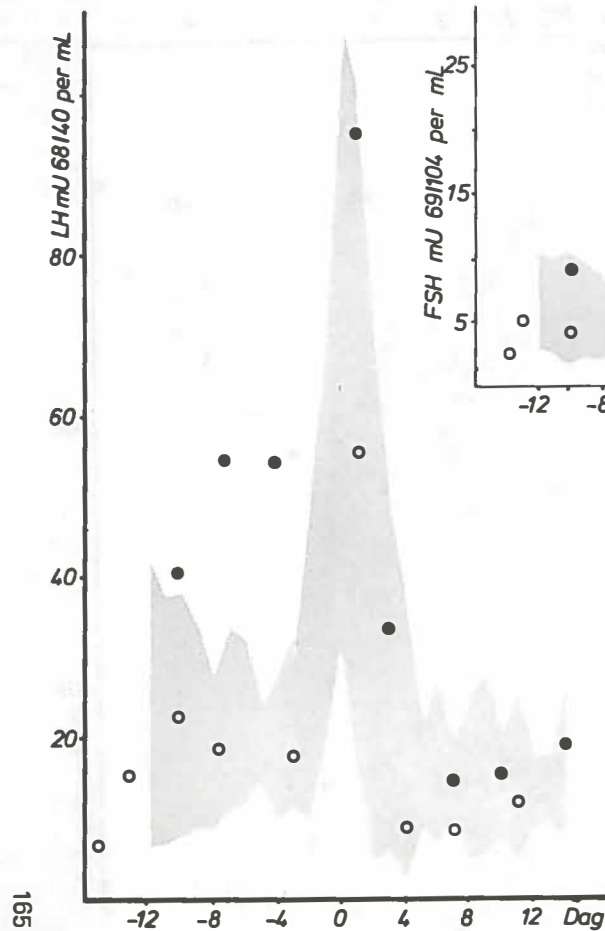
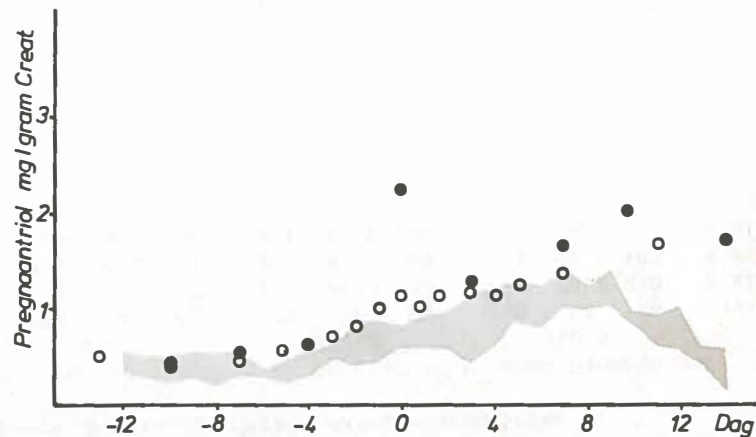


Fig. 8-3.d
Het verloop van het serum-FSH.

Fig. 8-3.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.



Conceptiecycli van patiënten met hirsutisme.

Tabel VIII-4. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomopheen.

cyclus	dag 1			dag 3			dag 5			dosis
	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	
a-3.1	1.9	16.7	172	4.1	21.8	228	3.2	28.8	240	5 x100
a-4.2	2.3	31.0	121	2.9	49.8	189	4.1	62.8	163	5 x150
d.2-5.1	3.9	26.9	106	6.1	42.7	186	-	-	-	5 x100

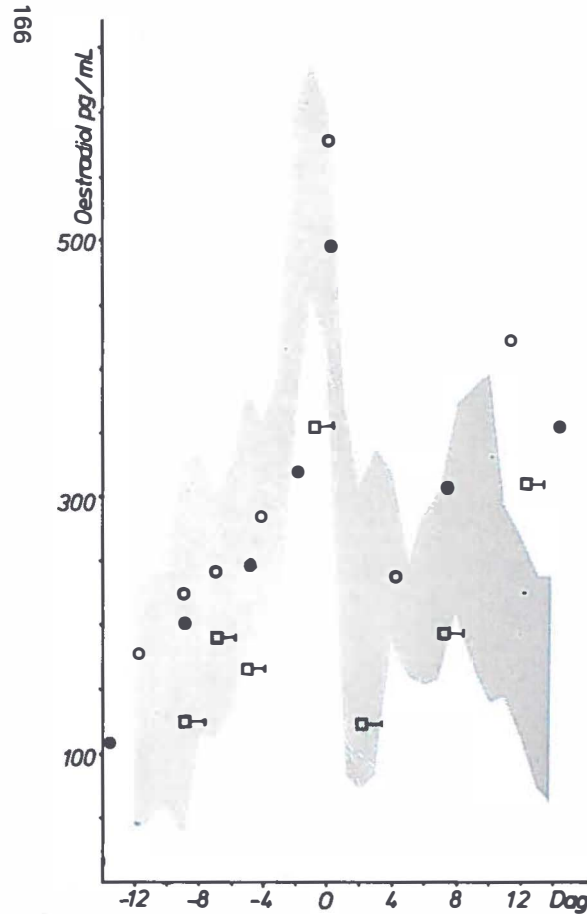
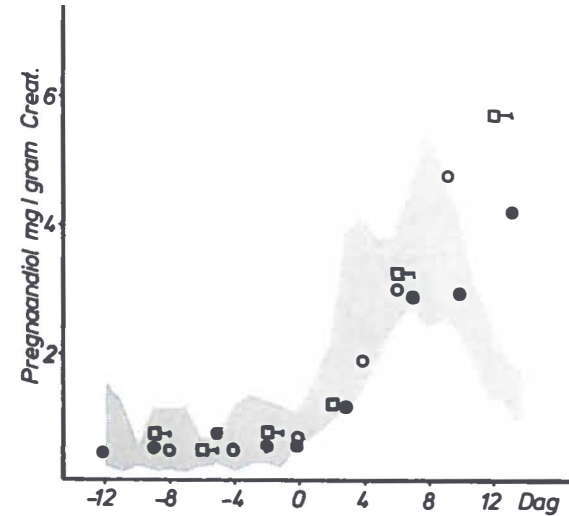


Fig.8-4^b
Het verloop van
de prenaandioli
excretie.



Legenda

- = a-3
- = a-4
- = d2-5

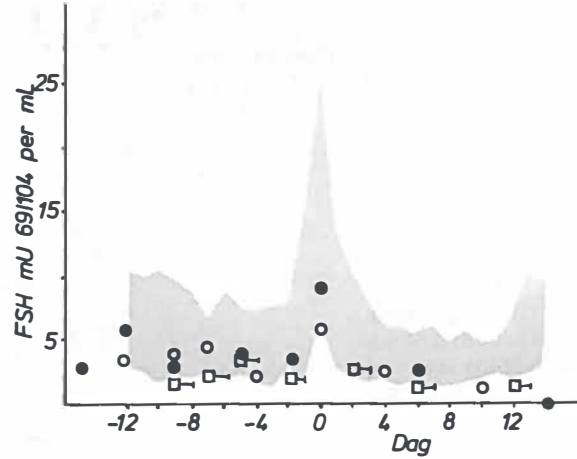
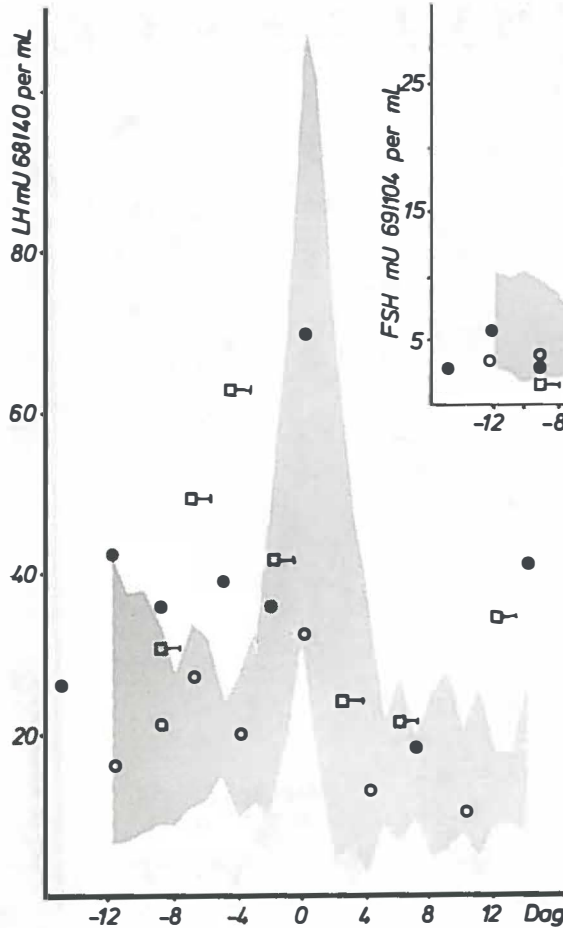
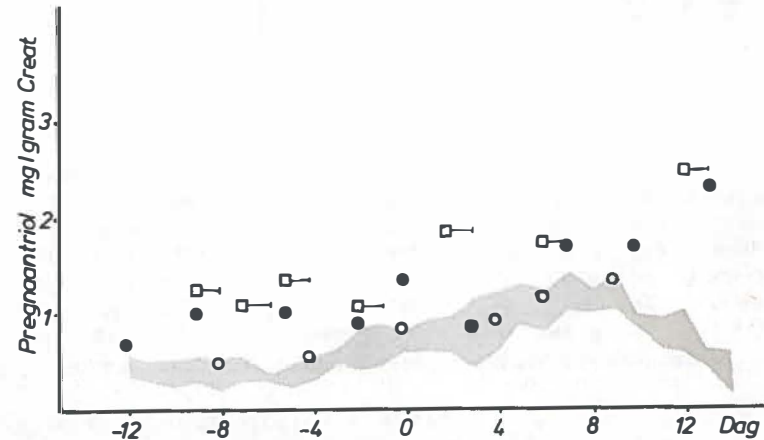


Fig. 8-4.d
Het verloop van het serum-FSH.

Fig. 8-4.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.



Conceptiecycli die in abortus eindigden.

Tabel VIII-5. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

	dag 1			dag 3			dag 5			
cyclus	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	dosis
b-3.2	3.1	32.6	112	-	-	-	6.2	68.1	712	5 x150
b-5.2	4.1	12.6	-	-	-	-(dag 4: 6.8	16.0	151)	5 x100	
b-8.4	3.2	18.9	65	-	-	-(dag 4: 7.1	25.7	159)	5 x200 [□]	
d.2-2.3	3.4	32.0	94	6.9	27.0	98	7.4	33.1	331	5 x250 [□]

□ + 5 mg prednison.

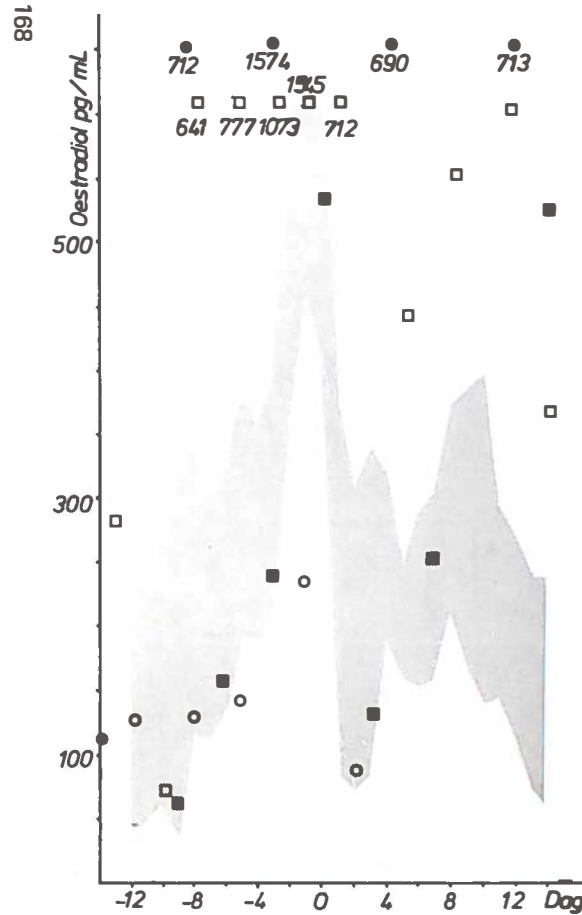
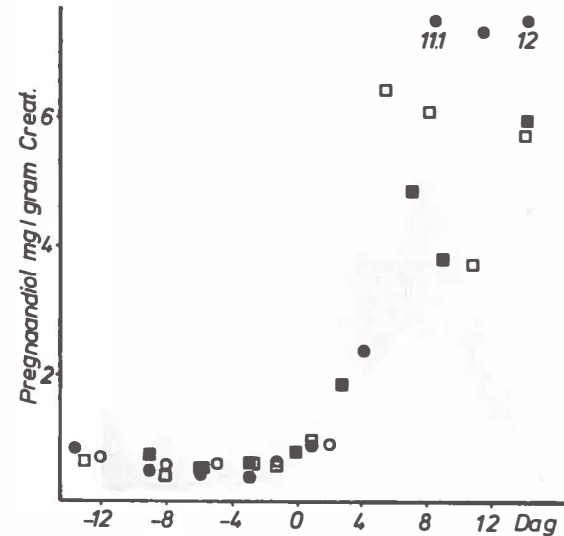


Fig. 8-5^a
Het verloop van
oestradiol in
het plasma.

Fig. 8-5^b
Het verloop van
de pregnaandiol
excretie.



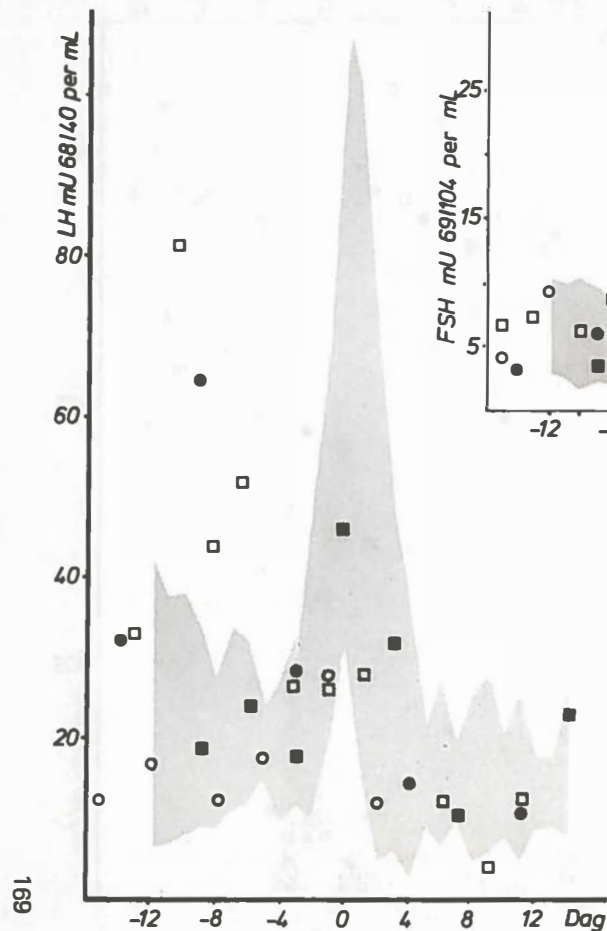


Fig. 8-5.c
Het verloop
van het
serum-LH.

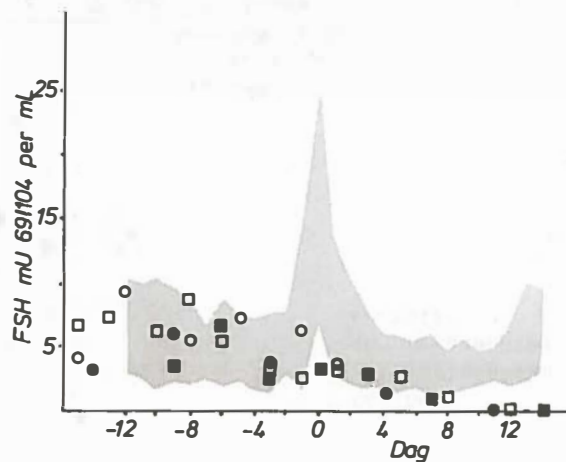


Fig. 8-5.d
Het verloop van
het serum-FSH.

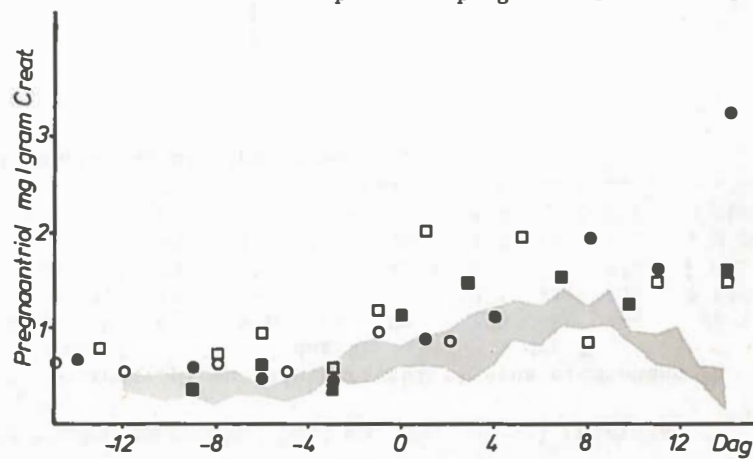


Fig. 8-5.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.

Legenda

- = b-3
- = b-5
- = b-8
- = d2-2

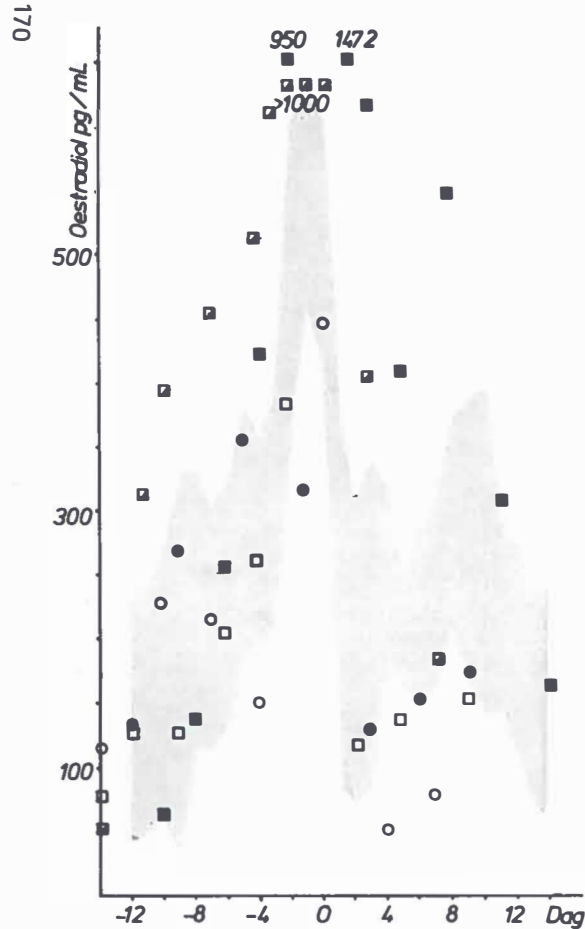


Fig. 8-6^a
Het verloop van
oestradiol in
het plasma.

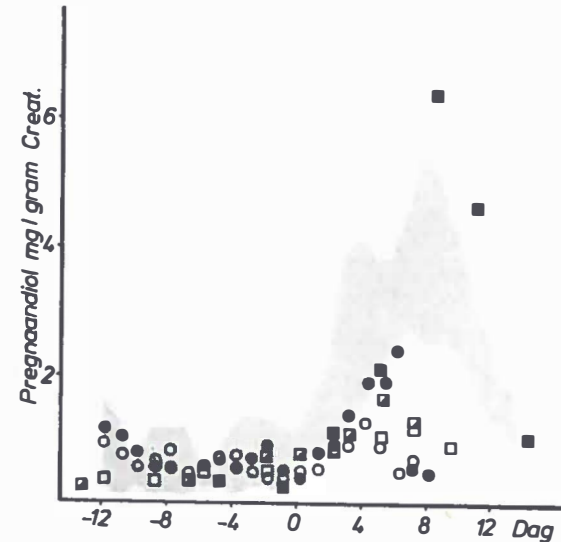
Cycli zonder conceptie. Laag en laag normaal LH niveau.

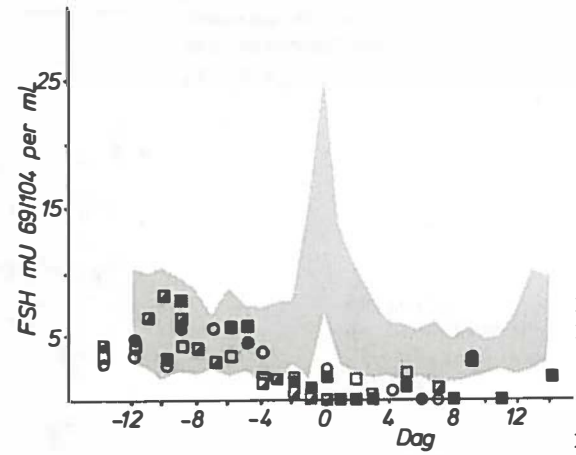
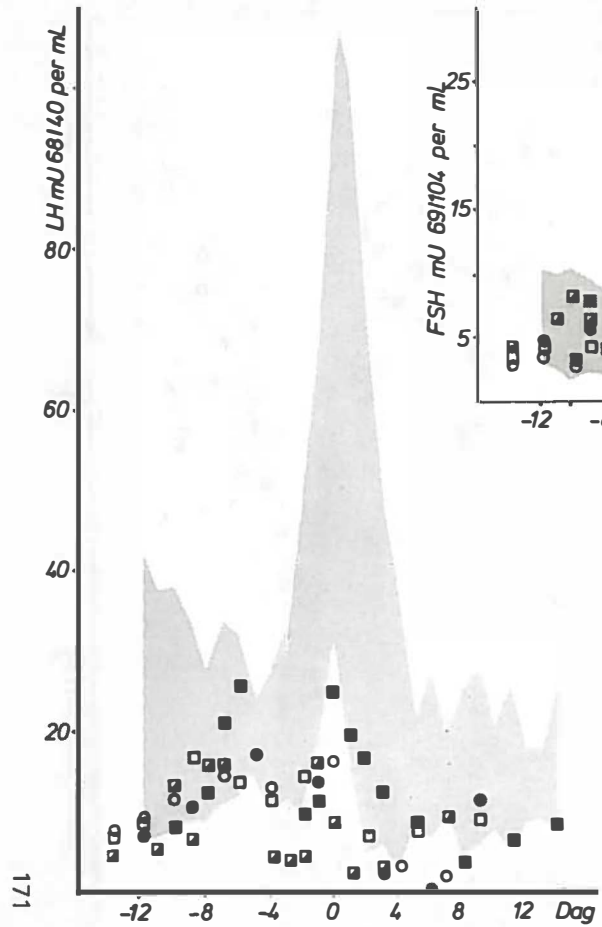
Tabel VIII-6. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

cyclus	dag 1			dag 3			dag 5			dosis
	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	
d.2-3.1	2.6	7.5	118	-	-	-	3.1	11.4	233	5 x100
d.2-3.2	4.2	6.7	135	-	-	-(dag 4: 5.7	10.1	273)	↑ dos [□]	
e.1-2.1	3.9	6.4	86	4.6	8.6	128	4.3	16.9	123	5 x 50
e.1-2.2	4.6	4.9	57	-	-	-(dag 4: 6.9	5.0	315)	5 x100	
e.1-2.3	3.5	7.0	69	-	-	-(dag 4: 6.5	26.6	255)	5 x150	

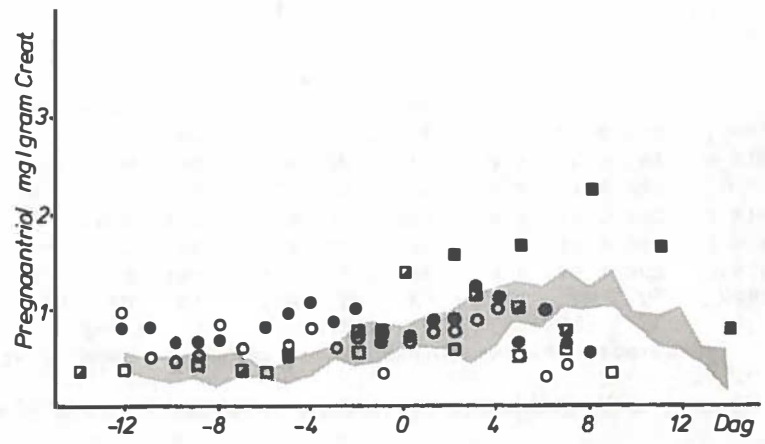
□ 50, 50, 100, 100, 150 mg clomipheen per dag

Fig 8-6^b
Het verloop van
de pregnaandiol
excretie.





Legenda	Duur luteale fase
○ = cyclus d.2-3.1	7
● = cyclus d.2-3.2	8
□ = cyclus e.1-2.1	10
▤ = cyclus e.1-2.2	8
■ = cyclus e.1-2.3	15



Cycli zonder conceptie. Normaal LH niveau, groepen D en E.

Tabel VIII- 7. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

	dag 1			dag 3			dag 5			
cyclus	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	dos _{is}
d.1-4.1	3.5	7.3	150	5.7	12.1	146	6.3	15.4	263	5 x 50
d.2-1.1	4.6	23.6	89	6.9	28.6	132	3.4	41.6	208	5 x 50
d.2-1.2	4.1	19.8	129	6.8	37.2	285	8.1	55.5	385	5 x 100
d.2-1.3	6.4	21.8	140	9.1	25.6	171	11.6	51.8	332	↑dos. □
e.1-1.2	3.1	11.6	86	4.9	28.2	115	3.8	16.4	181	5 x 100
e.1-1.3	1.8	15.0	89	3.8	21.7	148	6.9	32.6	246	↑dos. □

□ 50, 50, 100, 100, 150 mg clomipheen per dag

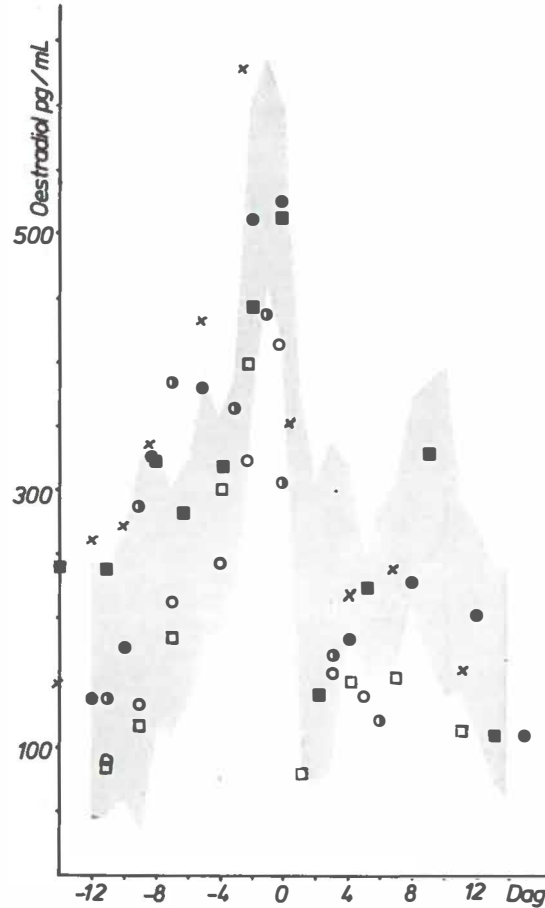
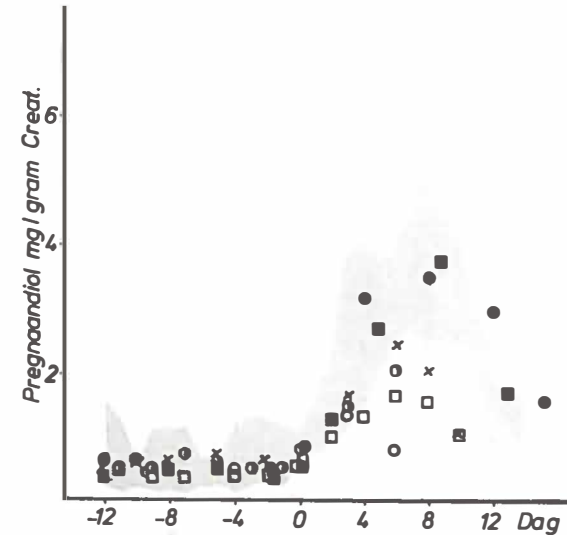
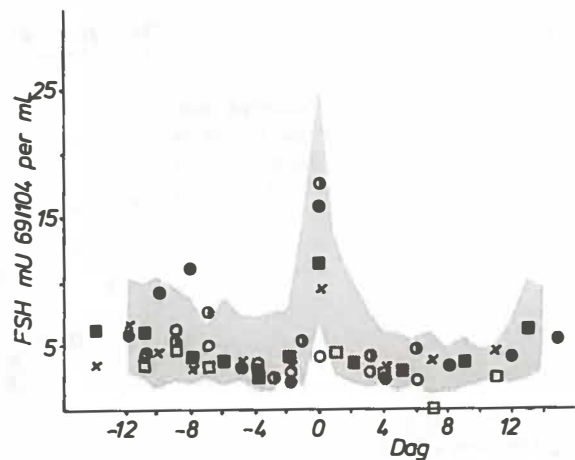
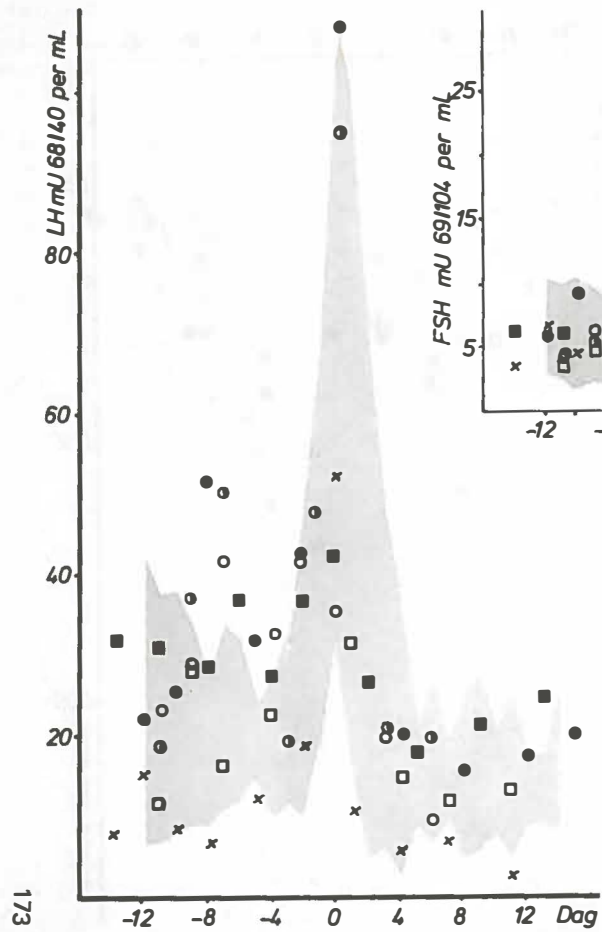


Fig. 8-7^a
Het verloop van
oestradiol in
het plasma.

Fig. 8-7^b
Het verloop van
de prenaandioli
excretie.



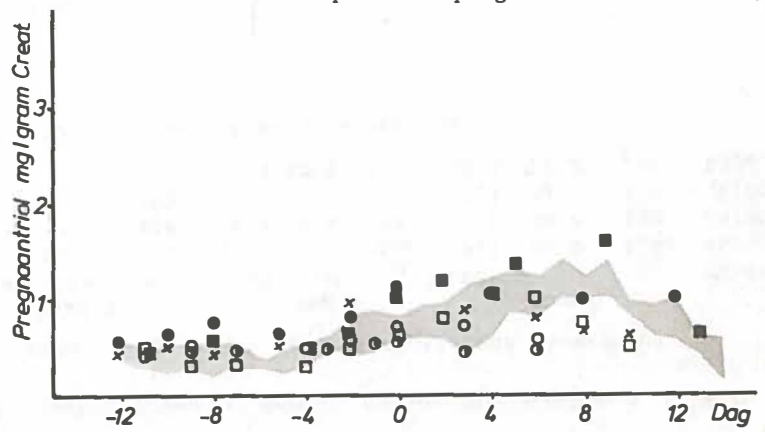


Legenda

	Duur luteale fase
X = cyclus d.1-4.1	11
○ = cyclus d.2-1.1	6
● = cyclus d.2-1.2	7
● = cyclus d.2-1.3	14
□ = cyclus e.1-1.2	13
■ = cyclus e.1-1.3	15

Fig. 8-7.d
Het verloop van het serum-LH.

Fig. 8-7.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.



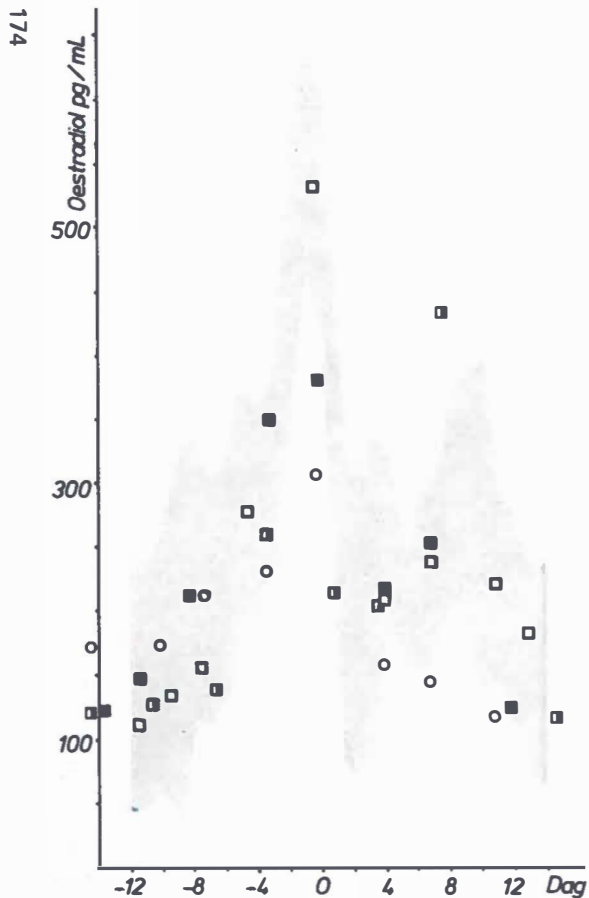


Fig. 8-8.a
Het verloop van
oestradiol in
het plasma.

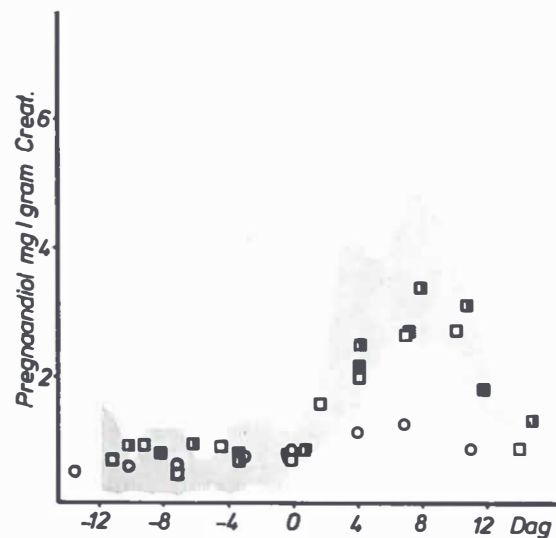
Cycli zonder conceptie. Normaal LH niveau, groepen A, B en C.

Tabel VIII-8. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

cyclus	dag 1			dag 3			dag 5			dosis
	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	
b-1.1	2.5	23.6	101	-	-	-(dag 4: 3.1	29.2	128)	5x100	
b-4.1	5.9	7.2	118	8.1	12.4	135	6.6	15.8	152	5x100
b-4.2	5.8	10.7	120	-	-	-	7.2	21.2	130	5x100
b-4.3	-	-	-	14.4	17.2	113	10.3	35.5	140	↑dos. □

□ 50, 50, 100, 100, 150 mg. clomipheen per dag

Fig. 8-8.b
Het verloop van
de prenaandiol
excretie.



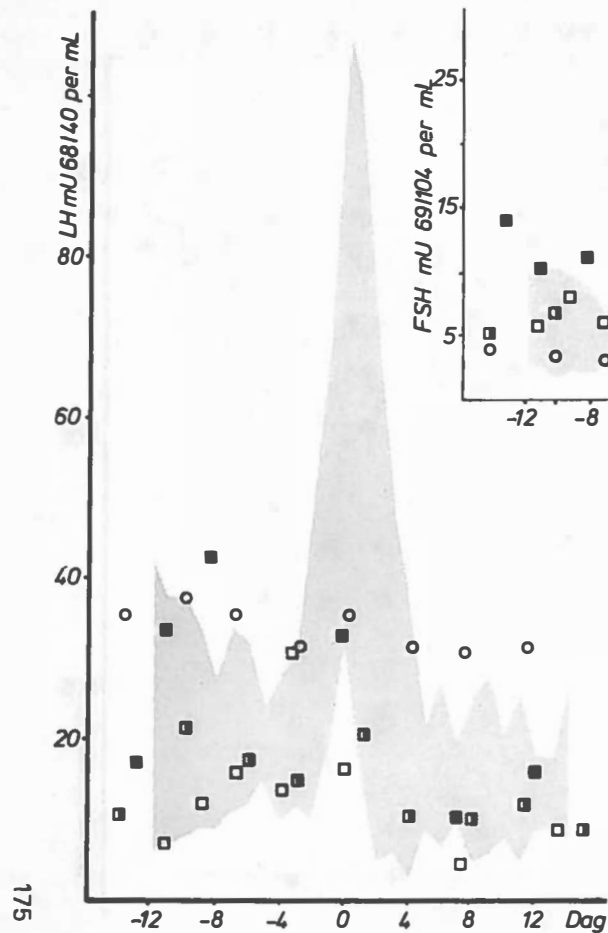


Fig. 8-8.c
Het verloop
van het
serum-LH.

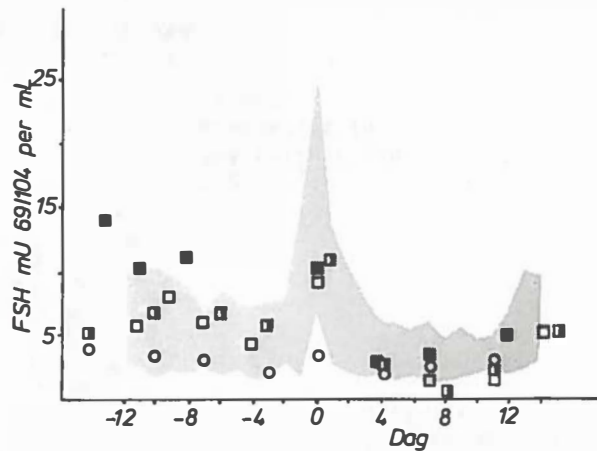
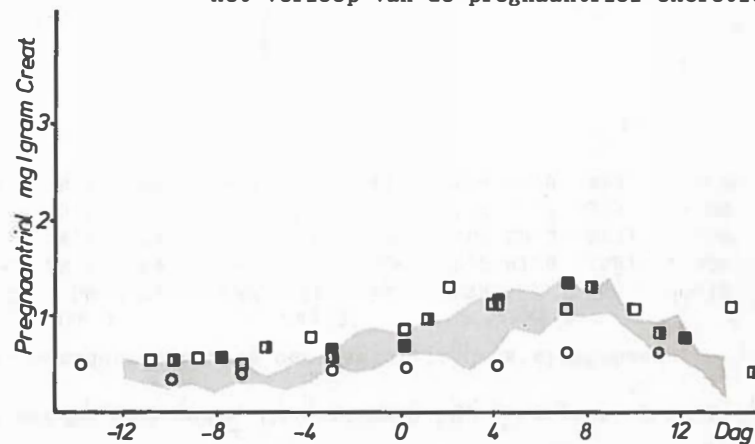


Fig. 8-8.d
Het verloop van
het serum-FSH.

Legenda	Duur luteale fase
○ = cyclus b-1.1	12
□ = cyclus b-4.1	14
▣ = cyclus b-4.2	15
■ = cyclus b-4.3	14

Fig. 8-8.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.



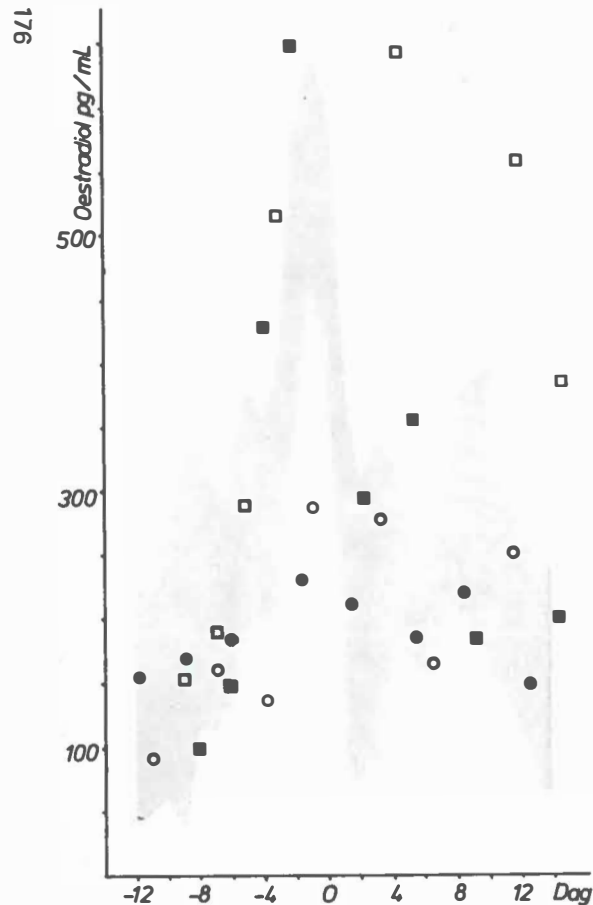


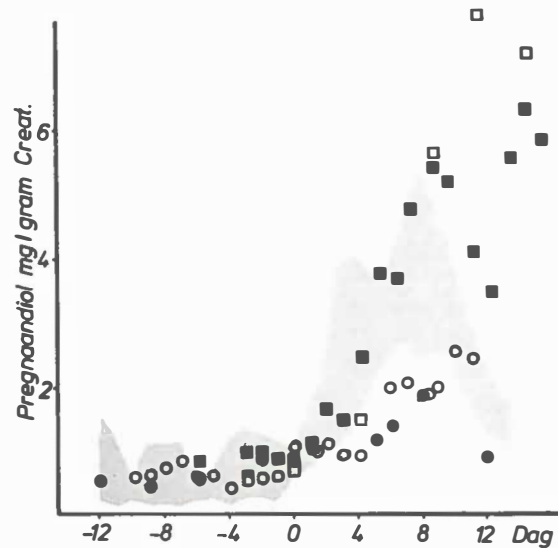
Fig. 8-9.a
Het verloop van
oestradiol in
plasma.

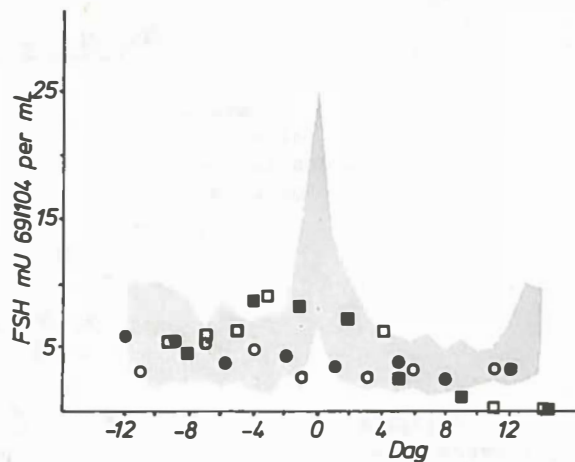
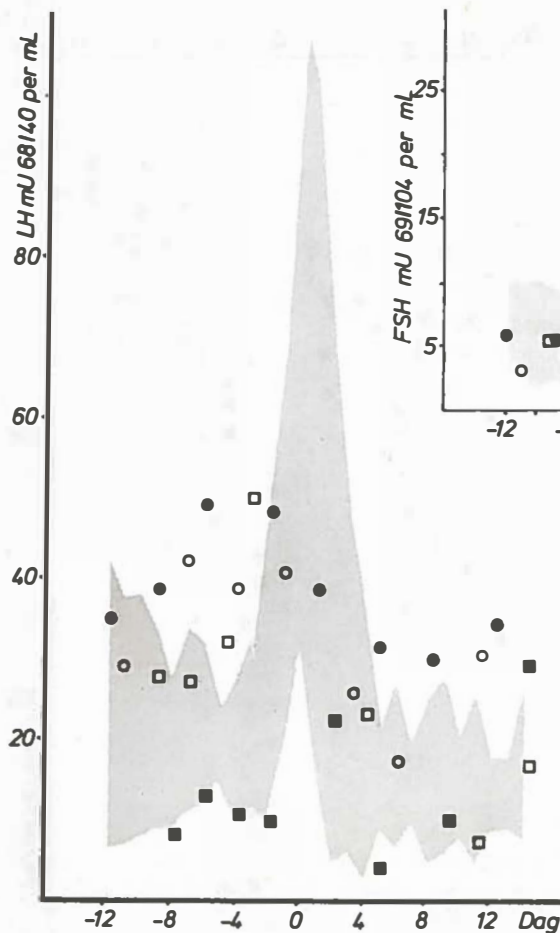
Cycli zonder conceptie. Hoog-normaal LH; groepen A, B en C

Tabel VIII-9. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

cyclus	dag 1			dag 3			dag 5			dosis
	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	
b-2.1	5.8	38.1	94	-	-	-(dag 4: 5.6	81.6	158)	5x100	
b-2.2	6.2	36.6	158	-	-	-(dag 4: 5.6	29.2	173)	5x100	
b-5.1	6.1	29.1	127	6.3	27.9	185	5.6	31.8	295	5x100
b-10.1	4.9	8.7	100	5.3	13.4	147	8.9	10.6	432	5x100

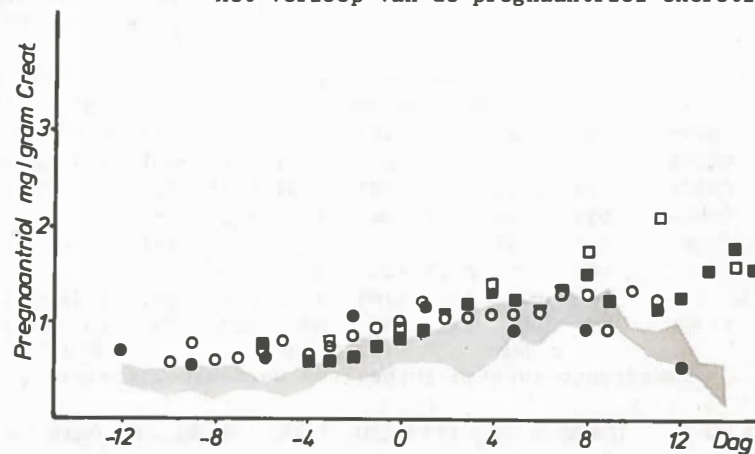
Fig. 8-9.b
Het verloop van
de prenaandiol
excretie.





Legenda	Duur luteale fase
○ = cyclus b.2-1	20
● = cyclus b.2-2	15
□ = cyclus b.5-1	20
■ = cyclus b.10-1	22

Fig. 8-9.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.



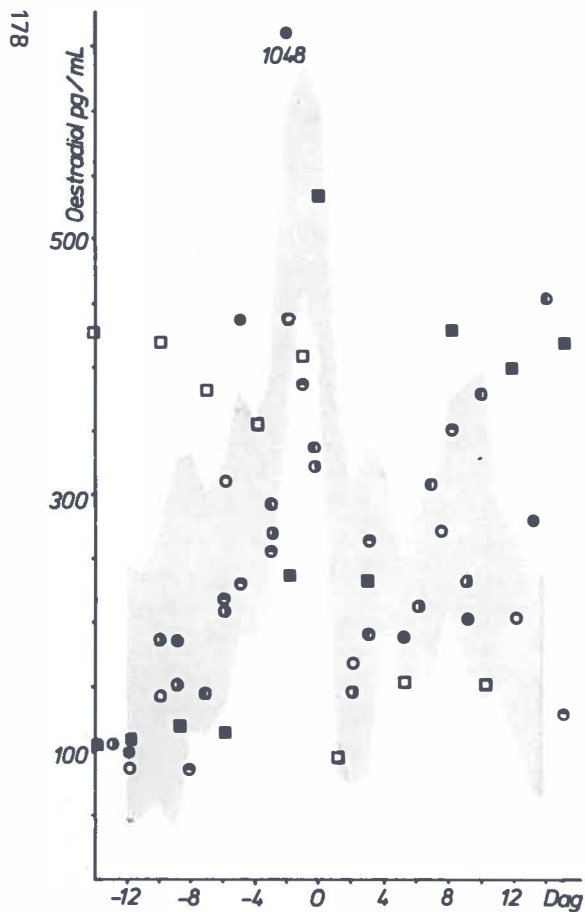


Fig. 8-10.a
Het verloop van
oestradiol in
plasma.

Cycli zonder conceptie. Hoog (normaal) LH; groepen A, B en C.

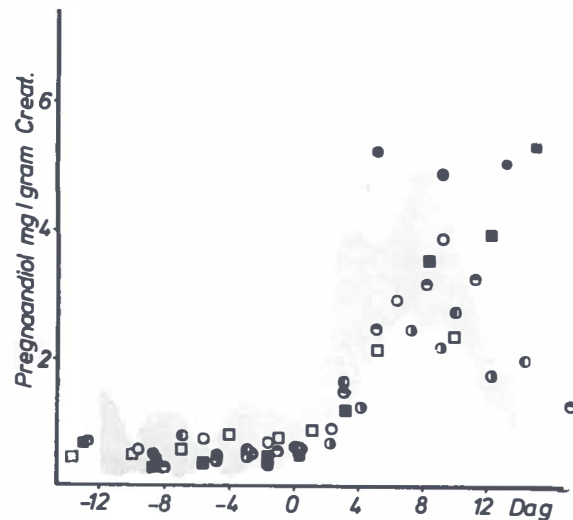
Tabel VIII-10. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

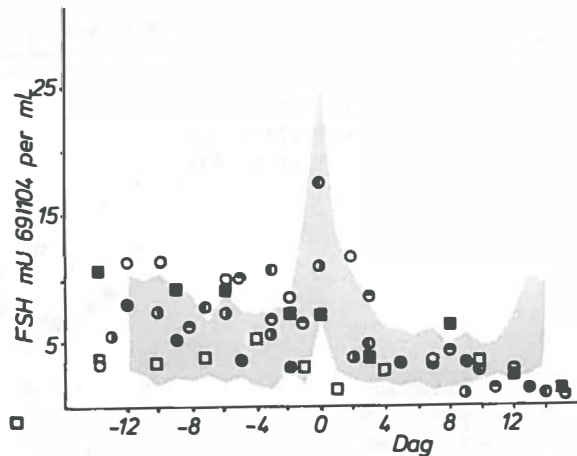
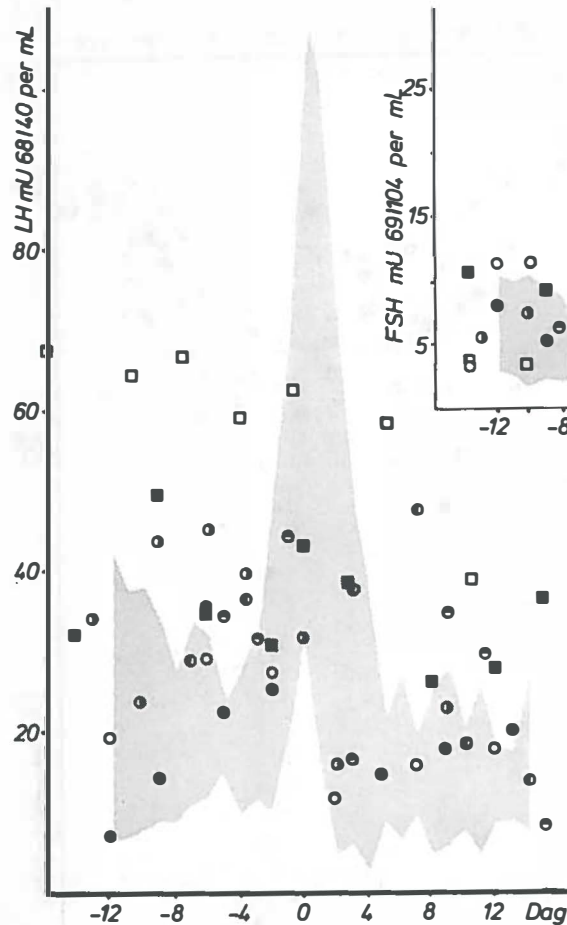
cyclus	dag 1			dag 3 (4)			dag 5			dosis
	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	
b-2.3	5.5	32.8	102	(8.4	21.7	187)	9.2	42.6	144	↑dos. □
b-2.4	-	-	-	(10.2	36.1	215)	11.2	34.1	223	↑dos. □□
b-2.5	8.5	27.5	144	-	-	-	11.1	36.6	298	↑dos. □□
b-6.2	-	-	-	9.0	30.1	80	10.8	32.8	110	5x200
b-10.2	6.9	-	56	11.4	19.0	135	11.5	23.0	141	5x150
b-10.3	8.3	6.5	100	(5.2	14.6	187)	-	-	-	5x150
c-3.3	9.0	>100	189	7.7	57.4	187	7.5	58.1	270	5x200

□ 50, 50, 100, 100, 150 mg. clomipheen per dag

□□ 100, 100, 150, 150, 200 mg. clomipheen per dag

Fig. 8-10.b
Het verloop van
de pregnaandiol
excretie.



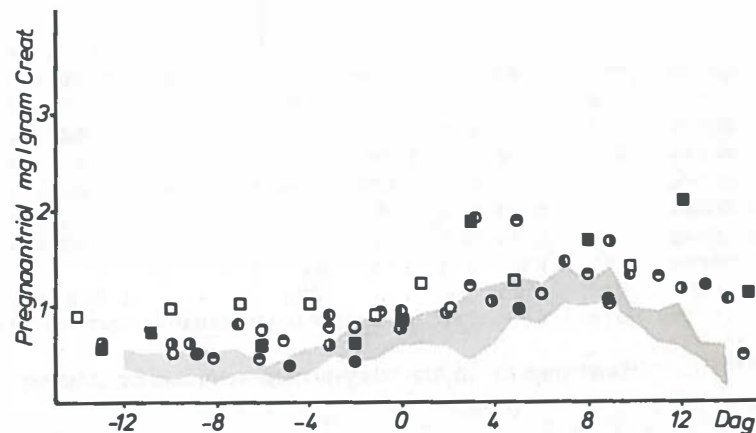


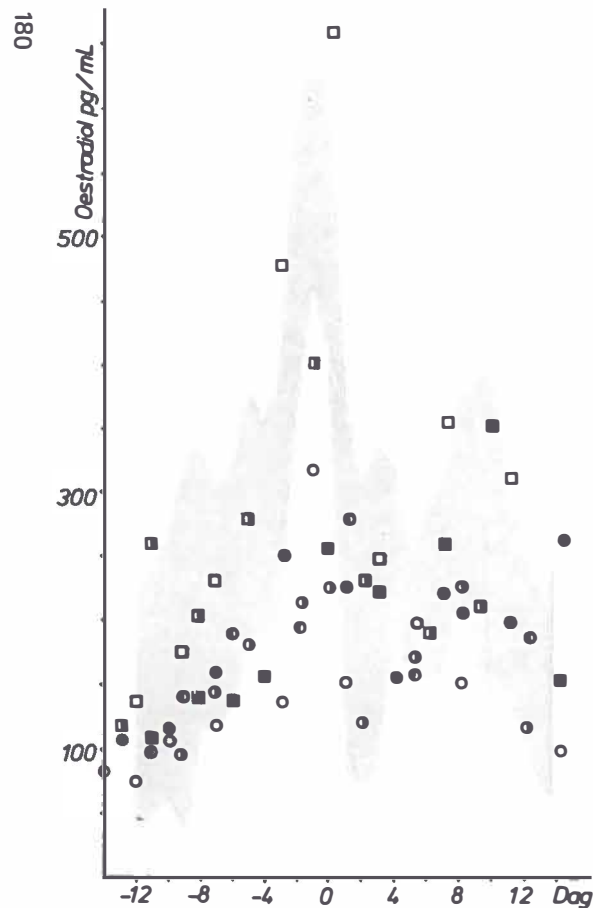
Legenda

Duur luteale fase

●	= cyclus b.2-3	16
○	= cyclus b.2-4	16
◐	= cyclus b.2-5	21
■	= cyclus b.6-2	18
○	= cyclus b.10-2	15
●	= cyclus b.10-3	21
□	= cyclus c.3-3	14

Fig. 8-10.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.





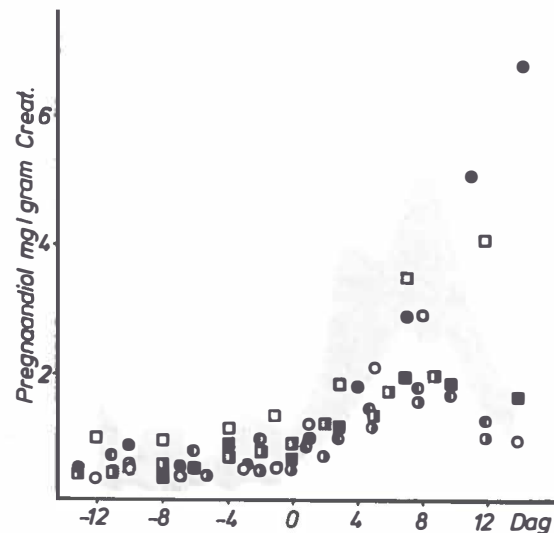
Cycli zonder conceptie; adipositas en/of hirsutisme.

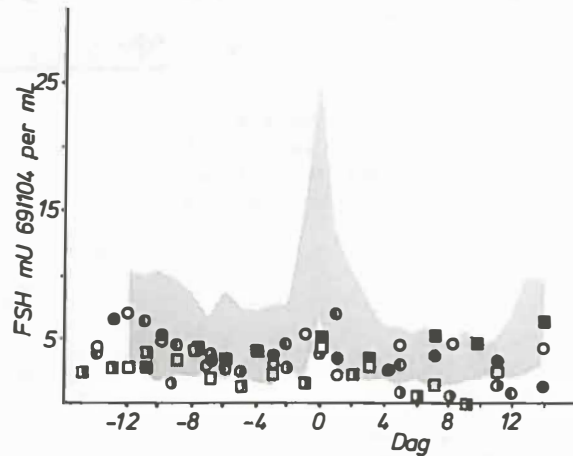
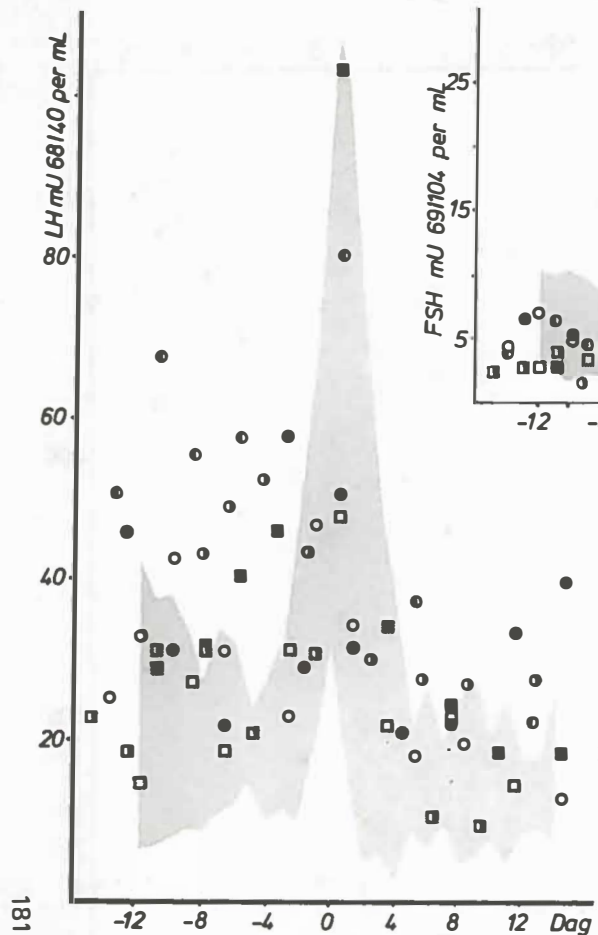
Tabel VIII-11. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

cyclus	dag 1			dag 3			dag 5			dosis
	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	
a-2.1	4.8	26.7	21	7.2	33.9	77	5.0	41.8	104	5x100
b-7.1	4.6	30.1	89	-	-	-(dag 4: 6.9	45.2	112)		5x100
b-8.1	2.5	22.6	74	3.2	18.1	123	4.4	31.7	272	5x100
b-8.3 [□]	2.6	14.6	143	-	-	-(dag 4: 3.4	28.6	176)		5x100
b-9.1	2.7	29.9	110	-	-	-(dag 4: 4.8	31.9	148)		5x100
c-6.1	2.1	42.6	100	4.1	48.5	126	3.1	52.7	180	5x100
c-9.1	4.2	49.6	82	-	-	-(dag 4: 7.4	68.7	95)		5x100

[□] + 5 mg. prednison dd.

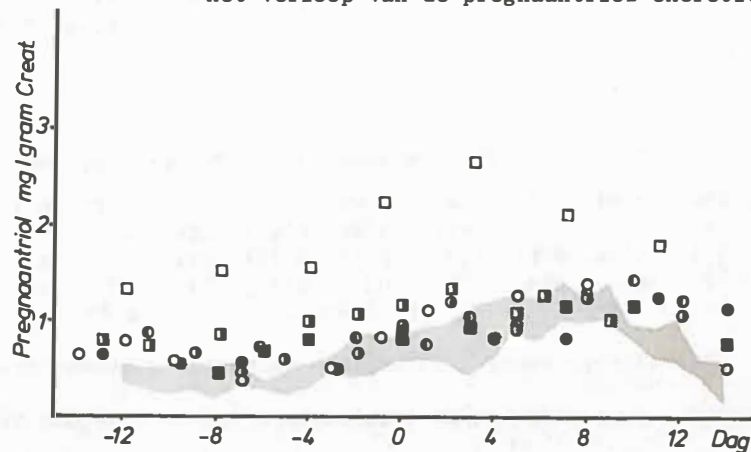
Fig. 8-11.b
Het verloop van
de prenaandiol
excretie

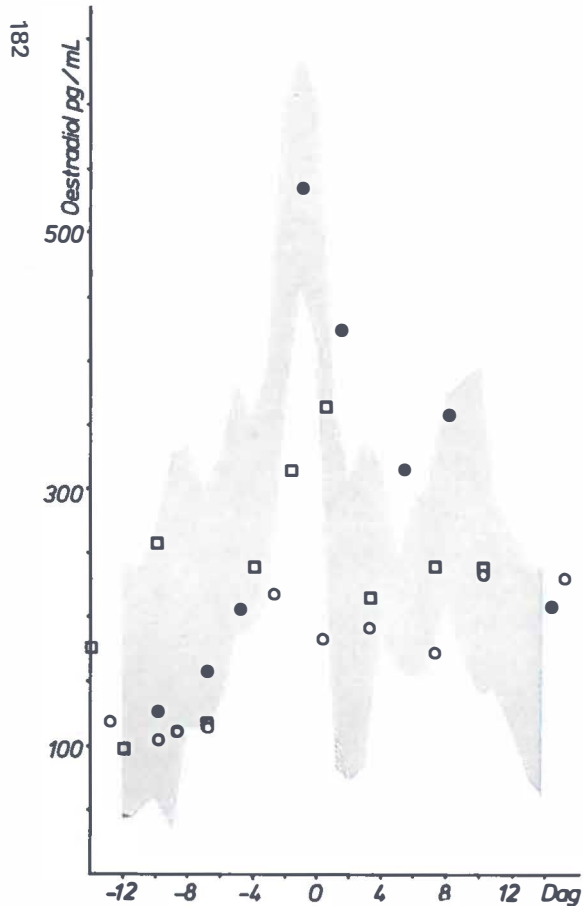




Legenda	Duur luteale fase
○ = cyclus a.2-1	14
● = cyclus b.7-1	24!
□ = cyclus b.8-1	15
▣ = cyclus b.8-3	12
■ = cyclus b.9-1	14
⊙ = cyclus c.6-1	11
● = cyclus c.9-1	14

Fig. 8-11.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.





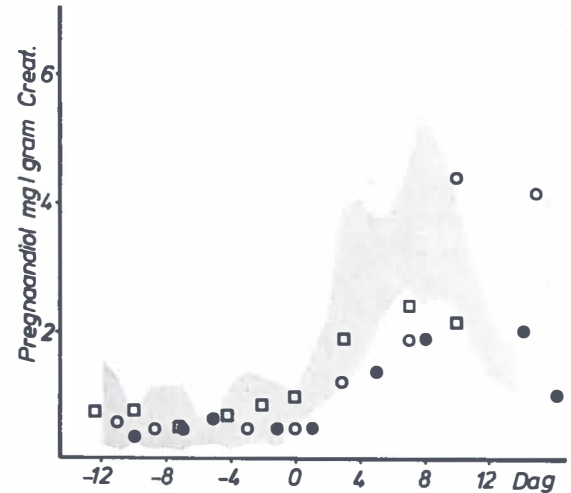
Cycli zonder conceptie; adipositas en/of hirsutisme; hogere doses.

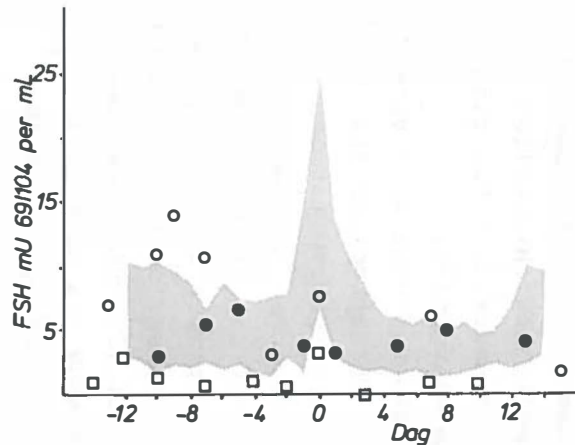
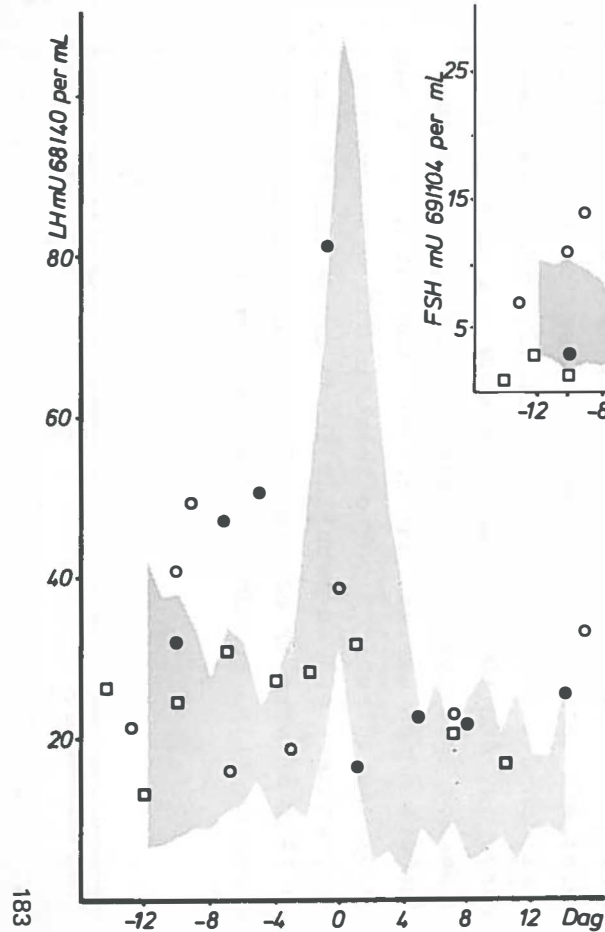
Tabel VIII-12. Gonadotropinen en oestradiol tijdens clomipheen.

cyclus	dag 1			dag 3 (4)			dag 5			dosis
	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	FSH	LH	E ₂	
b-7.2	6.8	21.5	113	(11.0	41.2	103)	14.6	56.2	105	↑dos. □
b-9.3	2.8	32.7	127	(5.3	48,6	154)	-	-	-	↑dos. □
d.2-6.5	1.3	23.9	172	3.3	13.8	97	1.3	16.6	269	5x200

50, 50, 100, 100, 150 mg. clomipheen per dag

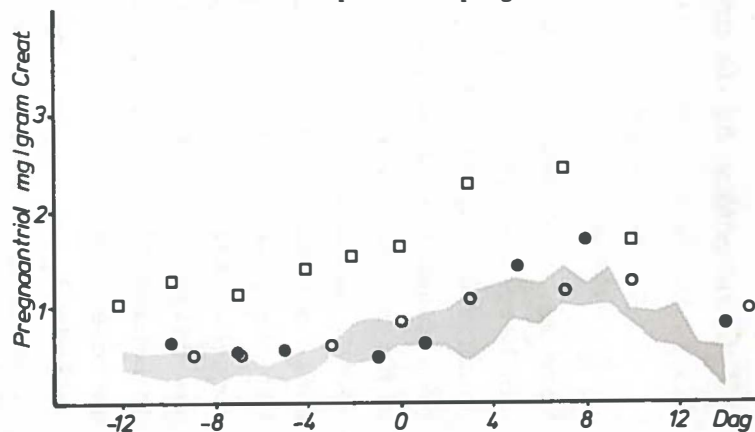
Fig. 8-12.b
Het verloop van
de prenaandiol
excretie.





Legenda	Duur luteale fase
○ = cyclus b.7-2	21
● = cyclus b.9-3	15
□ = cyclus d.2-6.5	14

Fig. 8-12.e
Het verloop van de pregnaantriol excretie.



8.3. Commentaar bij de gevonden hormonale patronen

8.3.1. De waarde van de indeling in categorieën op grond van de bij de oriëntatie gevonden LH niveaus.

Voor de resultaten van de hormoonmetingen in cycli worden besproken is het zinvol om zich af te vragen of de gebruikte classificatie (op grond van slechts enkele bepalingen van LH en FSH in het serum) betrouwbaar was. Wij menen dat deze vraag bevestigend moet worden beantwoord. Zoals gezegd in 8.1. bleek namelijk alleen tijdens de behandeling van patiënt b-10, dat de oorspronkelijke classificatie in de categorie patiënten met hoog-normaal LH niveau onjuist was. Bij deze patiënt was tussen de oriënterende diagnostiek en het begin van de behandeling een sterk (gewenst) gewichtsverlies opgetreden, waardoor de situatie aanmerkelijk kan zijn veranderd. Overigens klopte de classificatie.

In de literatuur wordt steun gevonden voor de opvatting, dat met een klein aantal gonadotropinenbepalingen voldoende gegevens worden verkregen om tot een classificatie en zelfs tot een diagnose te komen.

Pepperell et al (39) concludeerden dat één FSH bepaling voldoende is om inzicht te krijgen in het FSH niveau; één LH bepaling voldeed, wanneer deze lager uitviel dan 0.8 mU/ml. Kletzky et al (22) waren van mening, dat één LH bepaling voldoende zou zijn om de diagnose "polycysteuze ovaria" te stellen. De meeste auteurs menen echter, dat er met name wat betreft het LH niveau alleen een betrouwbare indruk wordt verkregen, wanneer een LH bepaling in de urine beschikbaar is (46) of wanneer een gemiddeld LH niveau kan worden berekend (13). Friedman (9) meende dat een enkelvou-

dige bepaling van LH en FSH alleen zinvol is om vast te stellen of amenorrhoe op uitputting van de ovaria berust. Bij meervoudige bepalingen zou het mogelijk zijn om de diagnose polycysteuze ovaria te stellen; overigens wezen de resultaten van zijn onderzoek niet op vaststaande patronen bij bepaalde klinische ziektebeelden. Dignam, Parlow en Daane (7) vonden een dergelijke relatie wel. Zij maten gedurende dertig dagen een maal per dag de gonadotropinen en vonden bij patiënten met fluctuerende waarden een goede reactie op clomipheen behandeling. Wanneer de LH en FSH waarden niet fluctueerden, zou de kans op inductie van een ovulatie met clomipheen klein zijn.

Over de frequentie waarin hormoonbepalingen moeten worden verricht om een betrouwbare uitspraak over het verloop van oestradiol en progesteron te kunnen doen is weinig gepubliceerd. Pepperell et al (38) kwamen tot de conclusie, dat bepalingen van oestrogenen- en pregnaandiolexcretie één maal per week in ieder geval voldoende zijn om te kunnen beoordelen of een normale ovulatoire respons is opgetreden. Saxena, Poshyachinda en Dusitsin (47) verrichtten onderzoek naar de waarde van weinig frequente hormoonbepalingen in het serum. Zij deden twee bepalingen van LH, FSH, oestradiol en progesteron in de follikelfase en twee in de luteale fase, op dag 20 en 25 van de cyclus. In de peri-ovulatoire periode werden op drie achtereenvolgende dagen bepalingen verricht. Bij alle 19 vrouwen (93 cycli) waren zij in staat om de cyclus te karakteriseren. De LH piek werd slechts in 26% van de cycli getroffen. Bij een onregelmatige cyclus was het, zoals te verwachten was, aanzienlijk moeilijker om de prae-ovulatoire oestradiolpiek en de maximale luteale progesteron secretie aan te tonen: dit was slechts in 50% van de cycli het geval. In het hier beschreven onderzoek was de bepalingsfrequentie even groot als of groter dan in de besproken

publicaties.

Het is dan ook aan te nemen, dat de gemeten hormoonwaarden een betrouwbaar beeld van de betreffende cycli geven.

8.3.2. Cycli met conceptie.

In de elf door clomipheen stimulatie geïnduceerde en voldoende gedocumenteerde ovulatoire cycli, waarin conceptie plaatsvond en waarop een voldragen zwangerschap volgde (tabellen VIII, 1 t/m 4, figuren 8, 1 t/m 4), werd slechts één maal een ten opzichte van de vergelijkingscycli marginaal laag verloop van oestradiol en pregnaandiol gezien (c-4, fig. 8-2.a en fig. 8-2.b). In twee cycli werden voor beide hormonen hoge waarden gemeten: b-1, fig. 8-2.a (oestradiol) en 8-2.b (pregnaandiol) en d.1-5, fig. 8-3.a en 8-3.b. Bij patiënt b-1 bleef het FSH (fig. 8-2.d) daarbij binnen de normale grenzen; in de conceptiecyclus van patiënt d.1-5 werden in de follikelfase hoge FSH waarden gemeten (fig. 8-3.d). Bij twee patiënten met adipositas en hirsutisme waren de FSH waarden gedurende de gehele cyclus laag (a-3 en a-4, fig. 8-4.d), maar het verloop van oestradiol (fig. 8-4.a) en pregnaandiol (fig. 8-4.b) was normaal. Dat is te verklaren òf doordat op het moment waarop de clomipheen toediening werd begonnen weinig FSH stimulatie nodig was, òf doordat ten gevolge van de geringe bepalingsfrequentie hogere FSH waarden werden gemist.

In een latere fase van de cyclus, na de implantatie van het bevruchte ei (dag +8), werd in alle cycli een zeer laag of niet aantoonbaar FSH gezien. Dit fenomeen werd ook door anderen waargenomen (R.E. Lequin, persoonlijke mededeling), maar de verklaring ervan is onduidelijk. Het meest voor de hand liggend is een krachtige rem op de hypofysaire FSH afgifte door de hoge oestradiol- en progesteronspiegels die door de

HCG stimulatie van het corpus luteum zijn ontstaan, De LH niveaus varieerden zeer sterk. Bij één patiënt werden steeds lage LH waarden gevonden (e.1-3, fig. 8-1.c); hoge LH waarden in de follikelfase werden gezien bij de patiënten die ook bij het oriënterende onderzoek hoge LH niveaus hadden vertoond: a-4 (fig. 8-4.c), c-4 en c-6 (fig. 8-2.c) en d.2-5 (fig. 8-4.c). en bij één patiënt met hyperstimulatie (d.1-5, fig. 8-3.c). Door de te lage bepalingsfrequentie werd de LH piek slechts in vijf cycli getroffen. Na dag +10 werd een geleidelijke stijging van het "LH" in de meeste cycli gezien. Dit kan worden verklaard doordat de blastocyst twee dagen na de implantatie meetbare hoeveelheden HCG produceert (5, 35).

Hoge excretie van pregnaantriol werd in twee vormen waargenomen: alleen in de luteale fase bij de patiënten die in de follikelfase zeer hoge oestradiolspiegels hadden (b-1, fig. 8-2.e en d.1-5, fig. 8-3.e) en bij drie van de vier bovengenoemde patiënten met hoog LH niveau, a-4 (fig. 8-4.e), c-6 (fig. 8-2.e) en d.2-5 (fig. 8-4.e). De veronderstelling, dat de excretie van pregnaantriol een maat is voor de LH stimulatie van het ovarium en in het bijzonder van de theca verdient nader onderzoek, vooral omdat ook in een aantal minder recente publicaties aanwijzingen in deze richting werden gevonden (28,31,58). Bij vergelijking van de pregnaantriol excretie in de conceptiecycli met normaal LH verloop met die in conceptie cycli met hoge LH waarden in de follikelfase (ook die waarbij de zwangerschap in abortus eindigde) werden ook nu argumenten voor deze hypothese gevonden. De gemeten pregnaantriol waarden werden in drie groepen verdeeld: van het begin van de clomipheen toediening tot en met dag -2, de waarden op de dagen -1, 0 en +1 en de waarden tot dag +10. De rankit test (18) toonde in alle zes groepen een ongeveer lineair verloop van de rankits, zodat Student's-t-toets kon worden toegepast.

De gevonden waarden van t , resp. $t = 2.617$ ($v = 34$) voor de follikelfase, $t = 2.459$ ($v = 18$) voor de peri-ovulatoire periode en $t = 3.2372$ ($v = 40$) voor de luteale fase bleken significant ($p < 0.05$) en maken een hoger verloop van de pregnaantriol excretie in cycli met hoge LH waarden aannemelijk. Een dergelijke relatie tussen het LH niveau in de follikelfase en de luteale pregnaandiol-excretie kon niet worden aangetoond (t -toets op de log-getransformeerde waarden: $t = 1.108$, $v = 40$, n.s.).

In de vier gedocumenteerde conceptiecycli die door een in abortus eindigende zwangerschap werden gevolgd (fig. 8-5, a-e en tabel VIII-5) werd twee maal duidelijke (b-3.2 en d.2-2) en een maal lichte (b-8.4) hyperstimulatie gezien. De vruchten waren in de eerste twee gevallen zogenaamde "windeieren", in het derde werd een sterk gemalformeerde vrucht naast een normaal ontwikkeld foetus gevonden (tabel VIII-5.a).

Tabel VIII-5.a. Pathologisch-anatomisch onderzoek van abortusmateriaal.

patiënt	opname duur voor abortus	tijdsverloop na conceptie (dagen)	uitslag van het histologisch onderzoek
b-3	7 dagen	52	intacte fibrotische vruchtzak zonder aantoonbaar foetus
b-5	-	69	trofoblast in curettement
b-8	4 dagen	115	foetus non maceratus 16 w. 1 sterk gemalformeerde vrucht met lengte 8 mm.
d.2-2	3 dagen	89	intacte vruchtzak met deels fibrotische, deels necrotische chorionvlokken. Geen foetus aantoonbaar

Alleen in cyclus b-5.2.2, waarin gedurende de luteale fase te weinig gegevens werden verkregen, werden aanwijzingen voor onvoldoende functioneren van de rijpen-

de follikel (fig. 8-5.a) en mogelijk van het corpus luteum gezien, (fig. 8-5.a, b en e), zodat luteale insufficiëntie een rol kan hebben gespeeld bij het veroorzaken van deze abortus.

Er is weinig gepubliceerd over het verloop van oestradiol en progesteron in cycli met conceptie die door toediening van clomipheen tot stand zijn gekomen.

Lehmann et al (23) en Robertson et al (43) vonden eveneens een normaal verloop van oestradiol en progesteron. De laatste auterus vermeldden het verloop van deze hormonen in een conceptie cyclus, waarbij de zwangerschap in abortus eindigde. Er werd geen verschil gezien met de cycli die door een normale zwangerschap werden gevolgd. Swyer et al (52) rapporteerden over 39 zwangerschappen, waarin het plasma-oestradiol alleen op dag 15 na het begin van de therapie en het progesteron alleen op dag 22 werd gemeten. Zij vonden, vergeleken met clomipheen cycli zonder conceptie, in de conceptie cycli hogere waarden voor het plasma-progesteron dan in de menstruele cycli. De oestradiol waarden vertoonden zeer sterke verschillen en lieten geen conclusie toe.

8.3.3. Conceptie bij spontane ovulatie.

Zes patiënten concipiëerden spontaan in aansluiting aan behandeling met clomipheen. Het betreft vijf patiënten met secundaire amenorrhoe (d.1-1, d.1-4, d.2-1, tabel en figuur 8-7 en e.1-2, tabel en figuur 8-6) en één patiënt uit groep A (a-2, tabel en figuur 8-11). Bij deze laatste was de relatie met de clomipheen toediening dubieus (zie 7.2.1.).

Bij vier van de vijf patiënten was de door clomipheen geïnduceerde ovulatoire cyclus normaal of was lichte hyperstimulatie opgetreden (e.1-2), de zwangerschap van patiënt d.1-1 volgde op een clomipheen behandeling zonder ovulatie.

Aangenomen kan worden, dat de activiteit van de hypo-

thalamo-ovariële as bij deze vijf patiënten door of na clomipheen toedieningen normaal was geworden, zodat spontane ovulaties weer mogelijk werden. Inmiddels is gebleken, dat de patiënten d.1-4, d.2-1, e.1-1 en e.1-2 opnieuw spontaan hebben geconcipteerd. Jammer genoeg werd bij hen het verloop van het menstruatiepatroon na het eind van de eerste zwangerschap niet nader onderzocht. Matthews en Cox (39) en Pennington en Atlay (37) vonden beiden, dat ongeveer 50% van hun patiënten na ovulatie-inducerende behandeling een verbetering van het menstruatiepatroon bemerkten en dat ongeveer 30% binnen twee jaar spontaan concipiëerde. Van de 95 door Matthews en Cox alleen met clomipheen behandelde patiënten vertoonden er 62 een regelmatige cyclus in de follow-up periode; 35 van hen werden spontaan gravida. Canales et al (4) vonden eveneens dat ongeveer de helft van 50 vrouwen die een succesvolle ovulatie-inductie hadden ondergaan, opnieuw spontaan zwanger werd. Bij patiënten met "idiopathische anovulatie" kwamen zeer weinig spontane concepties na de behandeling voor.

8.3.4. Onvoldoende functie van het corpus luteum: korte luteale fase.

Zeven patiënten, vier uit de groepen D en E (d.1-4, d.2-1, tabel en figuur 8-7, d.2-3 en e.1-2, tabel en figuur 8-11) en drie uit de groepen B en C (b-1, tabel en figuur 8-8, b-8 en c-6, tabel en figuur 8-11) vertoonden korte luteale fasen met een BTC elevatie die korter dan 13 dagen duurde. Zeer korte luteale fasen, met een duur van maximaal acht dagen, werden gezien bij de patiënten d.2-1, d.2-3 en e.1-2. Deze drie patiënten hadden een "incomplete reactie" na progesteron toediening vertoond (6.2.1., tabel VI-1). Hoewel steeds een duidelijk toegenomen pregnaandiol excretie in de luteale fase werd gemeten (fig. 8-6 en 8-7.b) waren de gevonden waarden laag, evenals het plasma oestradiol

(fig. 8-6 en 8-7.a) en de pregnaantriol excretie (fig. 8-6 en 8-7.e). De functie van het corpus luteum schoot dus in alle opzichten tekort. In de follikelfase vandeze cycli werd steeds een sterke toename van het plasma-oestradiol gezien. Een toename van serum-LH en -FSH tijdens het clomipheen gebruik was zichtbaar (tabellen VIII-6 en VIII-7), maar na dag -5 werden steeds zeer lage waarden gemeten (fig. 8-6 en 8-7.c en d).

De beschreven hormonale veranderingen in na clomipheen toediening opgetreden cycli met korte luteale fase komen overeen met de bevindingen van Kjeld et al (21) en Vaitukaitis et al (57) (3.3.5.), de enigen die hierover hebben gepubliceerd.

Het fenomeen op zich is echter vele malen beschreven (14,19,20,32,36). Strott et al (51) en Sherman en Korenman (49) beschreven zoals in 3.3.1. reeds werd vermeld een aantal spontane cycli met korte luteale fase. Deze spontane cycli waren gekenmerkt door een laag niveau van het FSH in de follikelfase (Strott) respectievelijk een laag FSH en af en toe lage LH waarden (Sherman).

Het oestradiol steeg, in tegenstelling tot de cycli die ontstonden na clomipheen toediening, slechts weinig in de follikelfase. In de luteale fase werden lage oestradiol en progesteron waarden gemeten, een aan de clomipheen cycli identieke bevinding.

Tengevolge van de door clomipheen geïnitieerde gonadotropinen stijging is kennelijk een groot aantal follikels tegelijk gestimuleerd. Het uitblijven van een stijging van het LH na dag -5 en de zeer lage gemeten FSH waarden duiden wat het LH betreft op falende positieve feedback op het hypothalamo-hypofysaire systeem (2.3.1. en 3.2.3.). De lage FSH waarden kunnen veroorzaakt zijn doordat de sterke oestradiol stijging de hypofysaire FSH afgifte sterker dan normaal heeft geremd. Hoe het ook zij, in de follikelfase van deze cycli bestonden te lage gonadotropinen en aangenomen kan worden dat onvol-

doende stimulatie is opgetreden om goede follikelrijping te krijgen, zodat het onwaarschijnlijk is dat ovulatie plaatsvond.

In een latere fase van de behandeling bleek, dat alleen bij patiënt d.2-3 (fig. 8-6) de situatie niet verbeterde.

Bij drie patiënten uit de groepen B en C (b-1, b-8 en c-6) en bij één patiënt uit groep D (d.1-4) werd een cyclus met marginale duur van de luteale fase, respectievelijk van 12, 12, 11 en 11 dagen, gezien. Ook bij deze vier patiënten werd een te lage pregnaandiolexcretie in de luteale fase gemeten. Vergeleken met de cycli met zeer korte luteale fase was het oestradiol in de luteale fase van deze cycli steeds hoger en viel binnen het normale gebied (fig. 8-13). Het folliculaire oestradiol was alleen bij patiënt d.1-4 (fig. 8-7.a) vergelijkbaar met dat van de patiënten d.2-1, d.2-3 en e.1-2; de drie patiënten b-1, b-8 en c-6 hadden in de follikelfase minder hoge oestradiol spiegels, vooral na dag -5 (fig. 8-8.a, 8-11.a). De gonadotropinen bij patiënt d.1-4 tijdens de toediening van clomipheen (tabel VIII-7) toonde een goede stijging van het FSH en slechts weinig LH toename. In de rest van de cyclus was het FSH (fig. 8-7.d) normaal en het LH (fig. 8-7.c) te laag. Wel werd een duidelijke LH piek gemeten. Bij de drie patiënten b-1, b-8 en c-6 is het verloop van de gonadotropinen tijdens de clomipheen toediening slecht te interpreteren (tabellen VIII-8 en VIII-11). Zo er al verschillen zijn met de waarden die bij patiënten met zeer korte luteale fase werden gemeten, rijst het vermoeden dat de clomipheen toediening in onvoldoende FSH stimulatie heeft geresulteerd; het LH was namelijk steeds normaal of zelfs hoog.

Figuur 8-13 geeft nog aanleiding tot de volgende opmerking. In dierexperimenten bij de rhesusaap (3) bleek, dat de lengte van de luteale fase wordt bepaald door

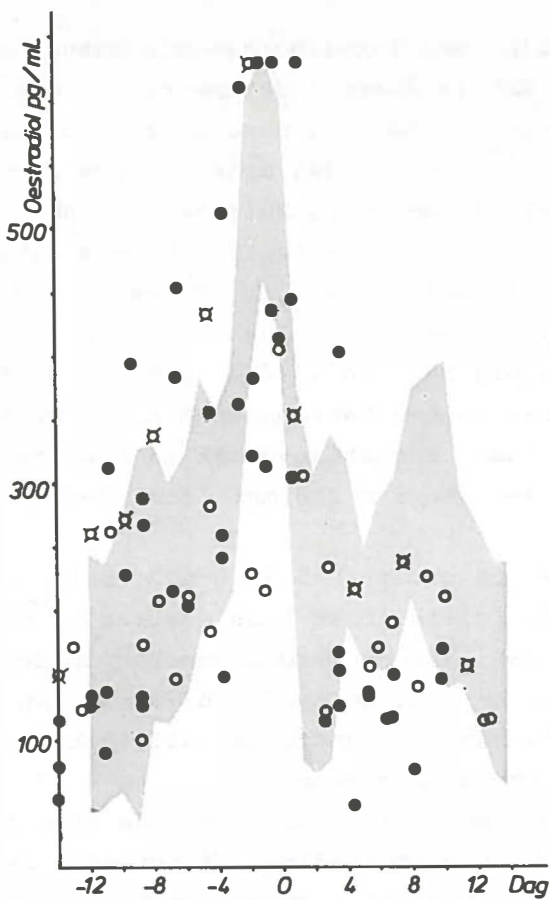


Fig.8-13. Het verloop van het plasma-oestradiol in cycli met luteale fasen korter dan tien dagen (●) vergeleken met het verloop dat in cycli met luteale fasen tussen tien en twaalf dagen werd gezien (○). x = d.l-4.

het niveau van de oestrogenen. Het hogere niveau van de oestradiol waarden bij de luteale fasen van 11 en 12 dagen, vergeleken met dat van de zeer korte luteale fasen, doet vermoeden dat dit ook bij de mens het geval kan zijn.

8.3.5. De lange luteale fase.

Vijf patiënten vertoonden in een gedocumenteerde cyclus

één of meer malen een luteale fase die langer dan 16 dagen duurde. Het is daarbij denkbaar, dat een conceptie is opgetreden (1,54). Al deze patiënten (zie 7.2.3.) bevonden zich in groep B. Bij drie van hen werd het verschijnsel zowel bij de gebruikelijke clomipheen dosis (5 x 100 mg.) als na toediening van hogere clomipheen doses gezien: bij patiënt b-2 in cyclus 1 (fig. 8-9) en 3 (fig. 8-10), bij b-7 in cyclus 1 (fig. 8-11) en 2 (fig. 8-12) en bij b-10 in 1 (fig. 8-9) en 3 (fig. 8-10). De patiënten b-5 en b-6 vertoonden elk één maal een lange luteale fase, respectievelijk na toediening van 5 x 100 (fig. 8-9) en 5 x 200 mg. (fig. 8-10) clomipheen.

In de helft van de cycli (b-5.1, b-6.2, b-10.1 en b-10.3) werden in de follikelfase hoge oestradiol waarden gemeten. Hoge FSH waarden werden gemeten in de cycli b-5.1, b-6.2 en b-10.3; in cyclus b-7.2 werden hoge folliculaire FSH's gemeten zonder dat dit in hoge oestradiol spiegels tot uiting kwam.

Men zou kunnen veronderstellen, dat deze krachtige gonadotrope stimulatie aanleiding gaf tot multi-pele follikelrijping en eventueel vorming van luteïncysten. Tengevolge daarvan zou een langer dan normaal durende hormoon productie in de luteale fase kunnen optreden. De omstandigheden, waaronder bij cyclisch ovulerende vrouwen na HCG toediening cysten ontstonden waren ongeveer dezelfde (3.3.4.) als in bovengenoemde cycli: voornamelijk wanneer te vroeg en te weinig HCG werd gegeven.

De in de luteale fasen in de cycli b-5.1, b-6.2, b-7.1, b-10.1 en b-10.3 gemeten hormoonwaarden wezen echter in de richting van een jonge zwangerschap. Het patroon was namelijk niet te onderscheiden van het hormoonverloop in de cycli met conceptie (figuren 8-1 t/m 8-4). Na dag +10 was er een toename van het "LH" (HCG vertoont een kruisreactie met LH in de gebruikte bepaling,

zie 4.2.1.), zoals te zien is in figuur 8-14. Er werden

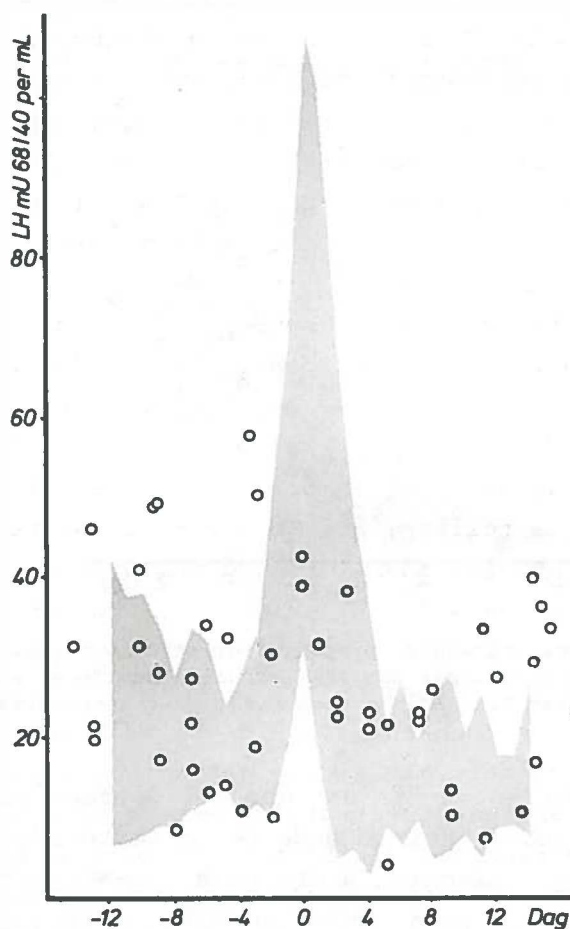


Fig. 8-14. Het verloop van het serum-LH in cycli met een luteale fase die langer dan zestien dagen duurde en waarbij de aanwezigheid van een jonge zwangerschap niet uitgesloten geacht kan worden.

zeer lage FSH waarden gemeten en ook de plasma-oestradiol waarden en de excretie's van pregnaantriol en pregnaandiol (fig. 8-15) toonden in plaats van de gebruikelijke daling vanaf dag +10 een stijgend verloop. In de cycli b-7.1 en b-10.1 werd op de 21e dag van de luteale fase een dubieus positieve zwangerschapsreac-

tie gevonden.

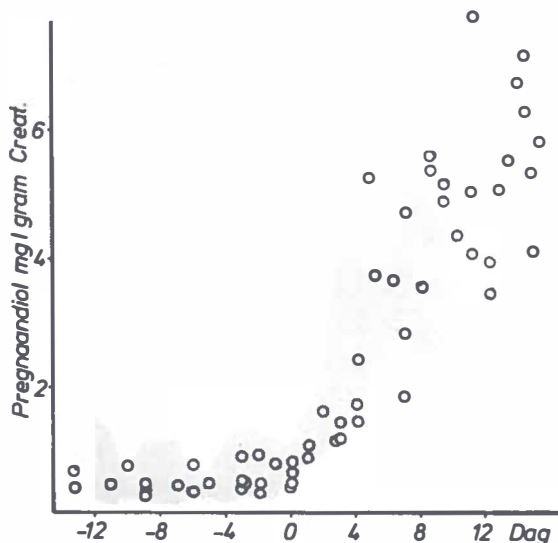


Fig. 8-15. Het verloop van de pregnaandiolexcretie in cycli met een luteale fase die langer dan zestien dagen duurde en waarbij de aanwezigheid van een jonge zwangerschap niet uitgesloten kan worden geacht.

Bij de vier patiënten die dit aan het patroon van de jonge zwangerschap herinnerende beeld vertoonden werden bij laparoscopie slechts in één geval (b-6) geringe macroscopische en in geen van de gevallen microscopische afwijkingen aan de ovaria gevonden. (Bij patiënt b-5 werd in oktober '76 een diagnostische laparoscopie verricht, waarbij macro- noch microscopisch afwijkingen aan de ovaria werden gevonden). De patiënt die een lange luteale fase zonder tekenen van zwangerschap vertoonde (b-2) had polycysteuze ovaria.

Het zou onvoorzichtig zijn om op grond van deze argumenten aan te nemen, dat in de zes beschreven cycli conceptie, gevolgd door een zeer vroege abortus, is opgetreden.

Whitelaw et al (59) beschreven echter bij 88 na clomipheen therapie ontstane zwangerschappen acht abortus

tussen dag 16 en dag 28 na de ovulatie. Zij gebruikten als detectiemiddel de basale temperatuurcurve, een dagelijkse zwangerschapsreactie vanaf dag 17 en endometriumbiopsie op de eerste dag van vaginaal bloedverlies. Deze lange luteale fasen duiken op in vele grafieken waarin de duur van de luteale fase na clomipheen behandeling is weergegeven. In één van de meest recente publicaties (6) duurde 12% van 154 luteale fasen langer dan 16 dagen, maar in de tekst werd er geen aandacht aan geschonken. In twee eerdere artikelen werd het fenomeen wel besproken. Pildes (40) en Roy et al (44) vonden in dergelijke gevallen gewoonlijk een palpabele ovariumcyste of, bij laparotomie, multipele kleine geluteïnisierde cysten. In de beide series werd nog gebruik gemaakt van hoge doses clomipheen (150 tot 225 mg. per dag) die gedurende 10 dagen tot drie weken werden toegediend; beide auteurs schreven het beeld dan ook toe aan hyperstimulatie.

In dit onderzoek werd slechts in één cyclus (b-6.2) manifeste hyperstimulatie gevonden. In vier cycli kan het fenomeen, zoals boven vermeld, in lichte mate een rol hebben gespeeld.

Hyperstimulatie sluit conceptie echter niet uit. Ons onderzoek was niet gericht op het vroeg aantonen van zwangerschap: daarvoor zou een nauwkeurige bepaling van HCG in het bloed en nauwkeurig onderzoeken van al het opgevangen menstrueel débris nodig zijn geweest.

De aanwijzingen voor extreem vroege abortus die nu werden verkregen vormen een duidelijke rechtvaardiging van een dergelijk onderzoek.

8.3.6. Ovulatoire cycli met normale duur van de luteale fase.

In acht ovulatoire cycli waarin geen conceptie plaats vond, ontstaan na toediening van 5 x 100 mg. clomipheen,

was het verloop van de hormonen goed te beoordelen. Het betreft de cycli e.1-1.2 (tabel en figuur 8-7), b-4.1 en b-4.2 (tabel en figuur 8-8), b-2.2 (tabel en figuur 8-9), a-2.1, b-8.1, b-9.1 en c-9.1 (tabel en figuur 8-11).

De patiënten a-2, b-8 en e.1-1 hebben later geconcipeerd, waarbij, zoals reeds is gezegd (7.2.1.), het verband tussen clomipheen gebruik en conceptie bij patiënt a-2 dubieus is.

In de figuren 8-16 en 8-17 zijn respectievelijk het ver-

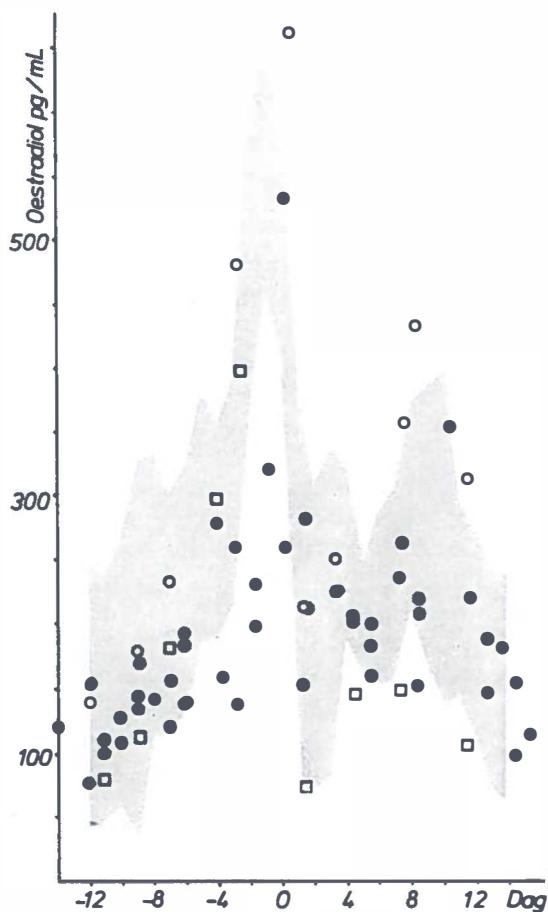


Fig. 8-16. Het verloop van het plasma-oestradiol in cycli met normale duur van de luteale fase bij patiënten die in een volgende cyclus concipieerden (□) en bij hen die dat niet deden (●).

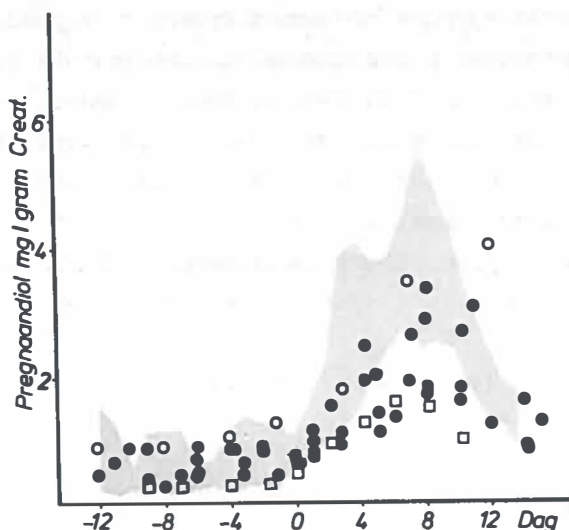


Fig.8-17. Het verloop van de pregnaandiolexcretie in cycli met normale duur van de luteale fase bij patiënten die in een latere cyclus concipiëerden (◻) en bij hen die dat niet deden (●).

loop van het plasma oestradiol en de pregnaandiol excretie in deze acht cycli nogmaals weergegeven. Het grote aantal lage oestradiol waarden in de late follikelfase is opvallend, evenals het normale verloop van het plasma-oestradiol in de luteale fase van de patiënten die ook later niet concipiëerden na behandeling met clomipheen.

De pregnaandiol excretie van de cycli e.1-1.2 (fig. 8-7.b), b-2.2 (fig. 8-9.b), b-9.1 en c-9.1 (fig. 8-11.b) was duidelijk te laag, die van cyclus a-2.1 (fig. 8-11.b) viel juist binnen de ondergrens van normaal. Alleen de cycli b-8.1, b-4.1 en b-4.2 vertoonden een normale pregnaandiol excretie (resp. fig. 8-11.b en 8-8.b).

Tien cycli met ovulatie zonder conceptie waren te beoordelen bij patiënten die met hogere doses clomipheen werden behandeld. Drie daarvan, de cycli e.1-1.3, e.1-2.3 en d.2-1.3 werden gevolgd door een spontane ovulatorische cyclus met conceptie en zijn al besproken in 8.5.2.

Zeven ovulatoire cycli ontstonden bij zes patiënten die niet na clomipheen behandeling hebben geconcipteerd: b-4.3 (fig. 8-8), b-2.3, b-2.4, b-10.2 en c-3.3 (fig. 8-10), b-9.2 en d.2-6.5 (fig. 8-12); bij drie patiënten (b-2, b-4 en b-9) waren dus ook lagere doses clomipheen door ovulatie gevolgd.

Het verloop van het plasma-oestradiol (fig. 8-18) in

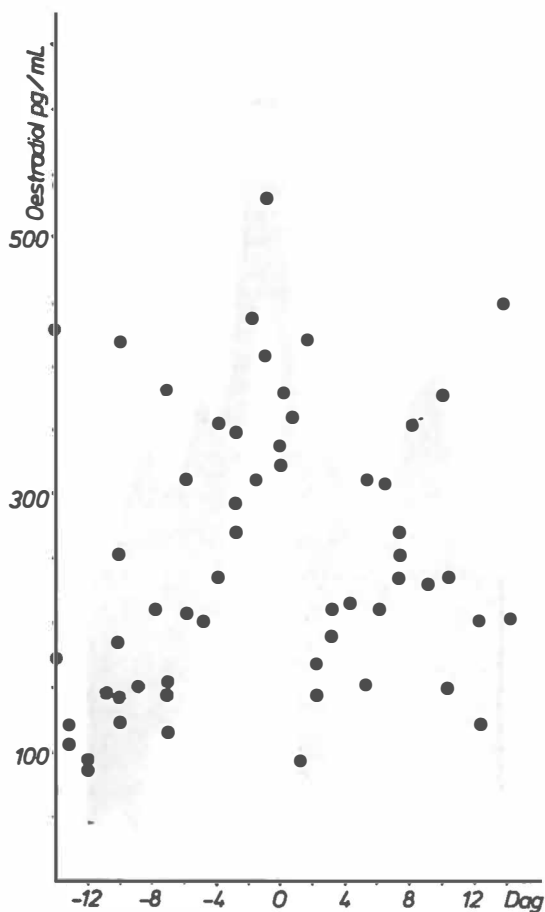


Fig.8-18. Het verloop van het plasma-oestradiol in cycli met normale duur van de luteale fase, ontstaan na toediening van hogere doses clomipheen aan patiënten die niet tot conceptie kwamen.

deze cycli bleek in beide cyclusfasen normaal te zijn. De gonadotrope stimulatie was slecht te beoordelen, omdat de gemeten LH en FSH waarden (fig. 8-19) zeer grote individuele verschillen vertoonden. De hogere gemeten oestradiolwaarden duiden er echter op dat deze krachtiger moet zijn geweest dan in de cycli die volgden op toediening van 100 mg. clomipheen per dag.

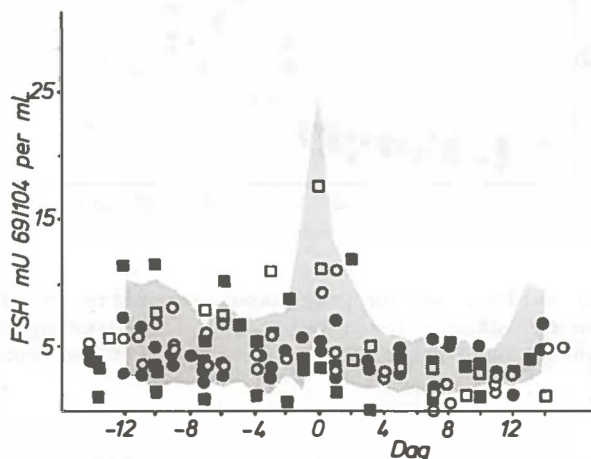


Fig.8-19. Een vergelijking van het effect van verhoging van de toegediende dosis clomipheen bij patiënten die daarna wél en die daarna niet concipieerden. ○ = FSH na toediening van 5 x 100 mg clomipheen aan patiënten die na dosisverhoging (□) concipieerden, ● = FSH na toediening van 5 x 100 mg clomipheen aan patiënten die na verhoging van de dosis (■) niet concipieerden.

De waarneming, dat bij zes cycli nog steeds een marginale of te lage pregnaandiol excretie werd gemeten en dat deze alleen in cyclus b-4.3 normaal was (fig. 8-20) doet bij deze patiënten twijfelen aan het nuttig effect van de vermoede krachtiger gonadotrope stimulatie op de functie van het corpus luteum.

Werd afwijkende functie van het corpus luteum in verband met het ontstaan van een korte luteale fase al weinig beschreven, literatuurgegevens over een onvoldoende progesteron productie bij normale duur van de luteale fase zijn wel zeer schaars. Robertson et al (43) vonden bij tien patiënten met oligomenorrhoe en secundaire amenor-

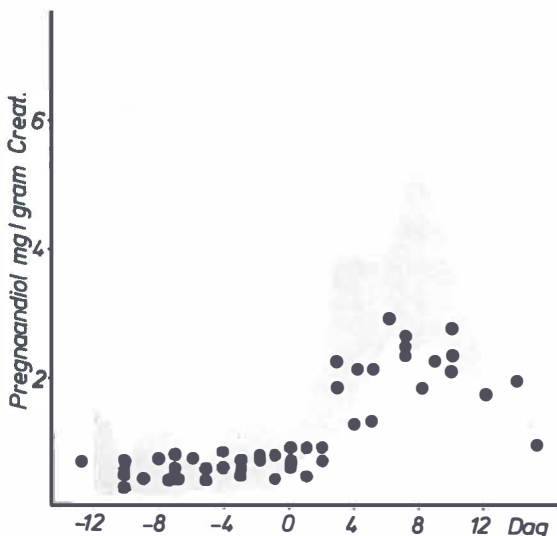


Fig.8-20. Het verloop van de pregnaandiolexcretie in cycli met normale duur van de luteale fase, ontstaan na toediening van hogere doses clomipheen aan patiënten die daarbij niet tot conceptie kwamen.

rrhoe in door clomipheen geïnduceerde ovulatoire cycli hoge oestradiol waarden in beide cyclusfasen. Het plasma-progesteron in de luteale fasen was in acht van de tien cycli hoger dan de waarden die in spontane cycli werden gemeten. Het weergegeven patroon komt ongeveer overeen met dat, wat in dît onderzoek bij cycli met conceptie werd gezien en inderdaad hebben zeven van de tien patiënten geconcipteerd. Jones et al (20) beschreven 32 vrouwen met abnormale corpus luteum functie. Van de 22 vrouwen met een Stein-Leventhal syndroom vertoonde de helft steeds afwijkingen die niet nader werden gespecificeerd. Vier patiënten, waarvan twee met een Stein-Leventhal syndroom, vertoonden zeer ernstige afwijkingen in de luteale fase. Zoals reeds werd besproken (3.3.3.) vertoonden de "corpora lutea" ernstige afwijkingen, vooral van de granulosa. De elf patiënten zonder duidelijke afwijkingen van de luteale functie werden vrijwel allemaal zwanger. Boon et al (2) beschreven vier patiënten

met een Stein-Leventhal syndroom en veertien met functionele menstruatiestoornissen. Vier hadden oligomenorrhoe en één van dezen had een Stein-Leventhal syndroom. Deze vier patiënten begonnen binnen een maand na opname in de studie regelmatig te menstrueren, maar het was niet bekend of zij zwanger zijn geworden. Zij vertoonden een hoog LH niveau en een laag FSH. Rebar et al (42) gaven 100 mg. clomipheen gedurende vijf dagen aan vier vrouwen met polycysteuze ovaria en vergeleken de dagelijks gemeten waarden van LH, FSH, oestradiol en progesteron met de waarden die verkregen werden na toediening van dezelfde dosis clomipheen aan spontaan ovulerende vrouwen. De waarden bij de vrouwen met polycysteuze ovaria verschilden van deze controlegroep alleen in de follikelfase, waar hogere LH niveaus en lagere oestradiol waarden werden gemeten. De functie van het corpus luteum leek normaal en het FSH was bij de patiëntengroep niet afwijkend. Hetzelfde laboratorium (61) had enkele jaren eerder na ovulatie-inductie met clomipheen bij zeven patiënten met polycysteuze ovaria in vier van de zeven cycli onvoldoende progesteron spiegels in de luteale fase, met hoog LH en laag FSH in de follikelfase gevonden (3.3.4.).

In acht spontane cycli van zes patiënten met adipositas en/of hirsutisme met een cycluslengte die varieerde van 24 tot 157 dagen vonden Sherman en Korenman (50) normale oestradiol waarden in beide cyclusfasen. Het FSH was steeds laag en de gemeten LH waarden waren normaal. De duur van de luteale fase was in alle cycli normaal (> 11 dagen), maar de secretie van progesteron was steeds onvoldoende. Volgens deze auteurs is het beeld karakteristiek voor adipeuze vrouwen met een irregulaire cyclus, al dan niet met hirsutisme.

Drie van de zeven patiënten uit het eigen onderzoek die na behandeling met clomipheen niet tot conceptie kwamen bleken een beeld te vertonen dat met de door Sherman en

Korenman geschetste karakteristiek overeenkwam. Deze patiënten, b-9, c-9 en d.2-6, hadden polycysteuze ovaria (tabel VI-3), en hebben goed gereageerd op bilaterale wigexcisie uit de ovaria. Hetzelfde geldt voor patiënt b-2. Histologisch onderzoek van de wigexcisies toonde naast polycysteuze degeneratie hyperthecose aan. Ook haar cycli voldeden aan de gegeven karakteristiek. Dit was niet het geval bij de patiënten b-4, b-10 en c-3. De twee eersten hadden in alle cycli hormoonwaarden die niet van de referentiecycli afweken, de derde vertoonde een sterk afwijkende cyclus. De ovaria van deze drie patiënten vertoonden bij laparoscopische inspectie en bij histologisch onderzoek van genomen biopoten (tabel VI-3) geen afwijkingen.

Nog een drietal andere patiënten dat wel concipiëerde met niet-operatieve therapie vertoonde in één of meer cycli de door Sherman en Korenman beschreven afwijkingen: de patiënten a-2, b-8 en c-4 (in een cyclus met conceptie). Patiënt c-6 vertoonde een korte luteale fase (fig. 8-11), maar het klinisch beeld past in deze groep. Bij patiënt a-2 werd geen laparoscopie verricht; zij vertoonde adipositas en hirsutisme. De resultaten van de ovariumbiopsieën en het macroscopische aspect van de ovaria van de drie overige patiënten wezen op de aanwezigheid van polycysteuze ovaria.

Op grond van deze gegevens lijkt het verantwoord te concluderen dat onvoldoende productie van oestradiol in de follikelfase en van progesteron in de luteale fase karakteristiek is voor de cycli die ontstaan na toediening van clomipheen in de gebruikelijke doses aan patiënten met polycysteuze ovaria. Het patroon van de gonadotropinen was moeilijker te interpreteren, maar ook in de literatuur bleek over de LH niveaus die bij het syndroom zouden voorkomen grote verwarring te bestaan.

MacArthur, Ingersoll en Worcester (24) suggereerden op grond van met bio-assay verrichte bepalingen van de LH

excretie, dat de productie van dit hormoon bij patiënten met polycysteuze ovaria is verhoogd. Taymor en Barnard (53) vonden een hoge LH excretie bij 14 van 32 patiënten met polycysteuze ovaria. Waren de ovaria groter dan normaal, dan werd in 50% van de gevallen een hoog LH gemeten. Yen, Vela en Rankin (60) vonden hoge, maar sterk wisselende LH waarden en laag-normale FSH waarden in het serum van dergelijke patiënten. Gambrell, Greenblatt en Mahesh (10) vonden eveneens lage serum-FSH niveaus, maar konden niet bevestigen dat het LH niveau hoger was dan bij patiënten met normale cycli werd gevonden. Givens et al (12) vonden bij patiënten met hyperthecose dezelfde afwijkingen van de gonadotropinen als Yen et al en beschouwden de abnormale LH/FSH verhouding als een "biochemische marker" voor deze afwijking. Het in ieder geval onregelmatige verloop van de LH spiegels bleek onafhankelijk te zijn van de steeds in overmaat aanwezige androgenen (11).

Het eerdere geciteerde artikel van Rebar et al (42) geeft de meest recente opvattingen over de gestoorde gonadotropinen afgifte bij het syndroom van de polycysteuze ovaria weer. Op grond van aan de in hoofdstuk II beschreven (2.3.1.) analoge proeven met LHRH, proeven met orale en intraveneuze toediening van oestrogeen (3.2.3.) en de hierboven beschreven resultaten van clomipheen toediening kwamen de auterus tot de conclusie dat het vermogen van hypothalamus en hypofyse, om op positieve en negatieve feedback door oestradiol te reageren ongestoord is, maar dat de neiging tot toegenomen hypofysaire LH afgifte en geringe FSH afgifte een specifieke functionele stoornis is, die wordt veroorzaakt doordat oestrogeen dat niet uit de rijpende follikels afkomstig is de feedback mechanismen op een dwaalspoor brengt: de afgifte van LH stimuleert en die van FSH remt. De stoornis in de LH/FSH ratio kan dus worden verklaard door factoren, die in 2.3.1. van dit proefschrift ter

sprake kwamen: onderdrukking van het FSH en gelijktijdige stimulatie van het LH door hoge oestrogeen spiegels.

Bij de vrouw kan oestrogeen in de circulatie komen door directe secretie of door aromatisatie van circulerende androgenen in de periferie (25). Het meest efficiënt wordt in de laatste opzicht het androsteendion benut, dat bij de normale vrouw in hoeveelheden van 1 tot 3.4 mg. per dag in het bloed terechtkomt, en waarvan ongeveer 1.5% in oestron wordt omgezet (16). Bij een aantal patiënten met polycysteuze ovaria werd door Mahesh en Greenblatt (29) waargenomen, dat het veneuze effluent uit de ovaria zeer hoge androsteendion spiegels vertoont. Horton en Neisler (17) maten bij patiënten met polycysteuze ovaria een bloedproductiesnelheid van androsteendion van gemiddeld 7.8 mg. per dag; het percentage dat in oestron werd omgezet was normaal, hetgeen betekent dat door dit proces van perifere conversie meer dan twee maal zoveel oestron als gewoonlijk in de circulatie komt. In extreme gevallen kan dit betekenen (26) dat vrijwel al het gemeten plasma-oestrogeen door dit mechanisme is ontstaan. Door MacDonald en Siiteri (27) werd een positieve correlatie aangetoond tussen adipositas en toegenomen conversie van androsteendion in oestron. Vetweefsel bleek in vitro in staat te zijn tot deze omzetting (41,48), maar het is niet onwaarschijnlijk dat de goede resultaten die bij een aantal patiënten met adipositas na vermagering werden bereikt tot stand zijn gekomen, doordat de opslag van oestrogeen in lichaamsvet, waardoor buffering optreedt (56), vermindert. De reden, waarom bilaterale wigexcisie bij onze patiënten tot zulke goede resultaten voerde zal nu duidelijk zijn: door vermindering van de ovariële androsteendion productie wordt de storende invloed van het daaruit ontstane oestron op de gonadotropinen afgifte verminderd. De toediening van prednison heeft mogelijk

hetzelfde effect, maar dan op de adrenale androsteendion secretie, gehad. Andere factoren, met name een effect van prednison op de hypothalamische regeling van de LH afgifte kunnen echter mede een rol spelen.

Opgemerkt moet worden, dat de pathogenese van het ziektebeeld door de geschetste mechanismen in het geheel niet kan worden verklaard en dat ook de pathofysiologische betekenis van de toegenomen androgenen productie volkomen onduidelijk is. Met name kan de waarneming, dat bij de rat circulerend androsteendion in de hypothalamus in oestron kan worden omgezet (33) een centrale plaats in de fysiologie van de cyclusregulatie blijken te spelen.

De opvatting, dat een kortdurende onderbreking van de "steady state" in de gonadotropinen afgifte in cyclische ovariumfunctie resulteert (vergelijk 2.4.4. en 2.5.) werd in de behandelingsresultaten met clomipheen bij patiënten met polycysteuze ovaria bevestigd, omdat het vrijwel steeds mogelijk bleek een "ovulatie" te induceren.

Het uitblijven van een normale zwangerschap moet echter door andere mechanismen worden verklaard. Ook na voldeende oestradiol productie in de follikelfase (die werd verkregen door toediening van hoge doses clomipheen) werd bij vrouwen die niet na clomipheen therapie concipiëerden een marginale of te lage pregnaandiol excretie in de luteale fase gemeten. Ervan uitgaande dat het progesteron in de luteale fase uitsluitend door de van de granulosa afkomstige luteïne cellen wordt geproduceerd, is het op grond van de in 3.3.4. besproken mechanismen waarschijnlijk, dat aan de marginale pregnaandiol excretie granulosa- en oöcytbeschadiging ten grondslag ligt.

8.3.7. Het effect van verhoging van de clomipheen dosis. Hyperstimulatie.

Het onderzoek heeft onvoldoende gegevens opgeleverd om een goede vergelijking van de in cycli met normale (5 x 50 of 5 x 100 mg.) doses clomipheen gemeten hormoonwaarden met die, welke in na toediening van hogere doses ontstane cycli werden verkregen, mogelijk te maken. De resultaten van het gevoerde beleid konden echter afgeleid worden uit de tabellen VII, 1 t/m 4), waardoor iets kan worden gezegd over de zin van het toedienen van hogere doses clomipheen. De meest voor de hand liggende complicatie van toediening van hoge doses clomipheen, te krachtige stimulatie, kon wel beoordeeld worden aan de hand van de in de verschillende cycli gemeten hormoonwaarden.

Aan dertien patiënten werd nadat de gebruikelijke doses clomipheen niet tot ovulatie hadden geleid een hogere dosering, tot maximaal 5 x 250 mg. gedurende vijf dagen, toegediend. Bij zeven van hen bleven ook nu tekenen van ovulatie uit: c-1, c-2, c-7, c-8 (tabel VII-3) en d.1-3, d.2-4, e.1-4 (tabel VII-4). Van de zes die nu wèl ovuleerden concipiëerden er drie (b-3, c-5, d.2-2) in de geïnduceerde cycli, maar twee maal trad abortus op (fig. 8-5). Patiënt c-5, die adipeus was, kreeg een normale zwangerschap. Patiënt d.2-6 heeft na een dosisverhoging steeds één maal geovuleerd (tabel en figuur 8-12); een tweede kuur in dezelfde dosis leverde geen ovulatie op. Patiënt b-6 zag na de cyclus die na toediening van een hoge dosis clomipheen ontstond (tabel en figuur 8-10) voorlopig van voortzetten van de behandeling af. Patiënt e.1-1 vertoonde na de eerste dosisverhoging onvoldoende luteale activiteit (tabel en figuur 8-7) en wordt, omdat ten tweede male de dosis werd verhoogd, ook hieronder besproken.

Behalve patiënt e.1-1 kregen veertien patiënten hogere doses clomipheen in verband met onvoldoende, maar mogelijk wèl ovulatoire reactie.

De patiënten b-1, b-8, c-6, d.2-1, d.2-3 en e.1-2 ver-

toonden een korte luteale fase na de gebruikelijke clomipheen dosis van 5 x 50 of 5 x 100 mg. clomipheen. Het hormonale patroon bij patiënt e.1-1 was in de luteale fase van de cyclus die na één dosisverhoging werd verkregen identiek aan dat van de eerste vijf patiënten (tabel en figuur 8-7).

Zes van deze zeven patiënten hebben na toediening van hogere doses geconcipeerd in de door clomipheen geïnduceerde ovulatoire cyclus, of in de spontane cyclus die erop volgde. Bij patiënt b-8 volgde een miskraam. Bij patiënt d.2-3, met hyperprolactinaemie, resulteerde de hogere dosis clomipheen niet in langer worden van de luteale fase (tabel en figuur 8-6).

Van de acht patiënten die na de normale clomipheen doses een normale of verlengde luteale fase vertoonden, hebben alleen de patiënten d.1-5 en a-4 na toediening van een hogere dosis geconcipeerd (figuur 8-3 en fig. 8-4).

Een lange luteale fase werd gezien bij de patiënten b-2 en b-10 (fig. 8-9) en b-7 (fig. 8-12), die alle drie ook bij de lagere doses dit fenomeen hadden vertoond. Bij de patiënten b-4, b-9 en c-3 volgde ook na toediening van hogere doses clomipheen een ovulatoire reactie zonder conceptie. Deze patiënten werden in 8.5.5. reeds besproken. Verhoging van de clomipheen dosis leidde dus bij elf patiënten tot conceptie. Zes keer ging dit gepaard met hyperstimulatie, namelijk in de cycli b-1.2 (tabel en figuur 8-2), b-3.2 (tabel en figuur 8-5), b-8.4 (tabel en figuur 8-5), d.1-5.2 (tabel en figuur 8-3), d.2-2.3 (tabel en figuur 8-5) en e.1-2.3 (tabel en figuur 8-6). Hyperstimulatie kwam in twaalf cycli voor, waarvan er vier ontstonden na toediening van 5 x 50 (d.1-4.1, tabel en figuur 8-7) of 5 x 100 mg. clomipheen (b-5.1 en b-10.1, tabel en figuur 8-9 en e.1-2.2, tabel en figuur 8-6).

Deze gegevens betreffende hyperstimulatie bij hogere

doses clomipheen wijken af van de door Rust et al (45) gepubliceerde cijfers, die in een vergelijkbaar therapeutisch regime in 6.7% van de cycli cysten waarnamen, op één geval na alleen na toediening van lage doses clomipheen. Zij verrichtten echter geen hormoonbepalingen. Ook in hun onderzoek werden 14 van de 39 zwangerschappen (bij 105 patiënten) verkregen na toediening van hoge doses clomipheen (maximaal 5 x 250 mg.).

Van hyperstimulatie werden drie vormen waargenomen. Eén wordt merkbaar in de follikelfase door een zeer snelle en sterke toename van het plasma-oestradiol. Eén komt alleen in de luteale fase tot uiting in een sterke vergroting van de ovaria en hoge waarden voor het plasma-oestradiol en van de pregnaantriol excretie en één is in beide cyclusfasen merkbaar. Bij deze laatste vorm worden steeds hoge waarden van het oestradiol in beide cyclusfasen en van pregnaandiol en pregnaantriol excretie in de luteale fase gevonden. Het tweede type werd twee keer waargenomen, na toediening van 5 x 200 mg. clomipheen, namelijk in cyclus b-6.2 (fig. 8-10) en in cyclus b-8.4 (fig. 8-5). Zowel patiënt b-6 als patiënt b-8 hadden bij de laparoscopie (zie tabel VI-3) macroscopische afwijkingen aan de ovaria, patiënt b-8 ook microscopisch.

Voor zover laparoscopie verricht was (patiënten d.2-2, b-10 en (niet in tabel VI-3 vermeld, omdat de ingreep veel later plaatsvond) b-3 en b-5) waren er bij de patiënten met hyperstimulatie van het eerste en derde type geen afwijkingen gezien. Wel werden af en toe grote ovaria gepalpeerd (patiënten b-1, b-3, b-10). Patiënt b-10 heeft in twee cycli hyperstimulatie vertoond. Zij was de enige die in de groep patiënten met sterke toename van het folliculaire oestradiol licht hirsutisme vertoonde, maar in de betreffende cycli bleek in tegenstelling tot de andere patiënten met hirsutisme een laag-normaal serum-LH te bestaan.

Hyperstimulatie van het derde type gaf vooral aanleiding tot klinische verschijnselen in cycli met conceptie of met een lange luteale fase: cyclus b-3.2 (fig. 8-5), b-6.2 (fig. 8-10), d.1-5.2 (fig. 8-3) en d.2-2.3 (fig. 8-5). De scherpe stijging van het plasma-oestradiol, "hyperstimulatie" van het eerste type, die vooral bij patiënten met laag LH en korte luteale fase werd gevonden, gaf nooit aanleiding tot klachten. Dit was wel het geval, wanneer de duur van de luteale fase normaal was: cyclus e.1-2.3 (fig. 8-6); ook daar bestond hyperstimulatie van het derde type.

Vermoedelijk is alleen deze laatste vorm van hyperstimulatie veroorzaakt door een voor de op dat moment bestaande situatie in de ovaria te hoge dosering van clomipheen. De hyperstimulatie van het eerste type berust waarschijnlijk op multipele follikelstimulatie die wordt veroorzaakt door goede FSH stimulatie met een relatief geringe LH inwerking. Het tweede type ontstaat vermoedelijk wanneer, bij hoog LH, door de clomipheen toediening reeds bestaande cysten tot luteïnisatie worden gebracht.

Het bleek bij dit onderzoek niet goed mogelijk om te voorspellen, wanneer hyperstimulatie zou gaan optreden. Kenmerkende patronen voor de LH, FSH en oestradiol waarden waren er niet. Opmerkelijk is, dat bij patiënten met hirsutisme alleen hyperstimulatie van het tweede type voorkwam. Het is niet goed mogelijk om uit te maken of dit wordt veroorzaakt doordat de toegediende doses clomipheen aan deze patiënten toch nog te laag zijn geweest om het verschijnsel te veroorzaken of doordat het vermogen om op een FSH prikkel te reageren geringer was dan bij patiënten zonder hirsutisme.

8.3.3. Het verband tussen de gonadotropinen niveaus, de ovariële morfologie, het voorkomen van abortus en de regulariteit van de cyclus.

Eén van de meest intrigerende resultaten van het onder-

zoek was het uitsluitend vóórkomen van abortus bij patiënten met een primair irregulaire cyclus. Ook de luteale fasen, waarin een op de zeer jonge zwangerschap gelijkend beeld werd gezien, bij patiënten uit groep B, die ook allen vanaf de menarche irregulair waren, waren een opvallende bevinding. Een gemeenschappelijk basispatroon van de gonadotropinen kon echter niet worden gevonden.

De twee patiënten die spontaan concipiëerden en een abortus kregen vertoonden een normaal LH patroon (a-2) en een laag-normaal LH patroon (b-10).

De vier na clomipheen behandeling ontstane abortus vertoonden drie maal een hoog normaal LH, één maal een hoog LH niveau. Bij de patiënten met hyperprolactinaemie waren na HMG/HCG behandeling twee abortus opgetreden, de eerste ontstond na hypo-, de tweede na hyperstimulatie, de ene patiënt (d.2-3) had een laag LH niveau, de ander een normaal (d.2-4).

Het FSH niveau bij alle patiënten die een abortus kregen was steeds normaal of laag-normaal (drie patiënten). Bij patiënten met lange luteale fase die mogelijk tekenen van zwangerschap vertoonden werd drie maal een hoog-normaal en één maal (b-10) een laag-normaal LH niveau gezien. Het FSH niveau was steeds normaal. Twee patiënten (b-5 en b-10) hadden ook een gedocumenteerde abortus.

Alleen bij de patiënten b-6 en b-8 werden bij de laparoscopie afwijkingen waargenomen: patiënt b-6 vertoonde multipеле grote cysten, doch het histologisch onderzoek was normaal, patiënt b-8 had polycysteuze ovaria. Bij patiënt a-2 is geen laparoscopie verricht, bij alle andere patiënten hadden de ovaria zowel macroscopisch als microscopisch een normaal aspect.

In 3.3.4. werd het theoretisch verband tussen de gonadotrope stimulatie en oöcyt- en granulosa degeneratie besproken. Deze fenomenen bleken nauw met elkaar samen te

hangen .

Het was voorspelbaar, dat een poging om bij cycli met conceptie die in abortus eindigden de oorzaak van de abortus te vinden niet zou kunnen slagen. Het frequent voorkomen van hyperstimulatie in de follikelfase, met zowel hoge oestradiol als LH waarden, maakt het echter aannemelijk dat het beschreven verband tussen krachtige c.q. te langdurige of voortijdige LH stimulatie en oöcytdegeneratie ook bij de mens bestaat. Men vraagt zich daarbij af, waarom niet veel méér abortus na clomipheen stimulatie ontstaan. Het antwoord hierop moet uitblijven, maar wij willen wijzen op een aantal recente publicaties, waarin gevonden wordt dat er tijdens het rijpingsproces van de oöcyt ook een aantal beschermingsmechanismen in werking treden. Zo vonden Harman, Louvet en Ross (15) dat oestrogeen de grotere follikels beschermt tegen door LH geïnduceerde atresie. Febres, Gondos en Siiteri (8) beschreven door LH stimulatie verhoogde testosteron en dihydrotestosteron productie, die tot atresie aanleiding gaf in middelgrote follikels zonder antrum. In follikels met antrum (en dus aanzienlijke oestrogeen productie) werd het fenomeen veel minder sterk waargenomen, terwijl ook progesteron tegen atresie zou beschermen. In vitro blijkt FSH de progesteron productie in de granulosa cellen te stimuleren (34); een proces waar androstenedion synergistisch in werkt.

Tenslotte menen Tsafriri, Pomerantz en Channing (55) er in geslaagd te zijn een in follikelvloeistof voorkomende remmer van de oöcytrijping te isoleren en gedeeltelijk te karakteriseren. Het zou een peptide zijn met een molecuulgewicht < 2000. LH bleek in staat de door deze stof veroorzaakte remming van de meiose op te heffen.

De vraag, waarom bij patiënten met het polycysteuze ovarium syndroom niet alleen weinig zwangerschappen maar

ook betrekkelijk weinig abortus worden gezien, kan ten dele worden beantwoord door erop te wijzen, dat in deze ovaria het merendeel van de follikels ernstig beschadigd is (3.4.).

De betrekkelijk geringe LH stimulatie en de goede oestradiol respons zouden aanwijzingen kunnen geven ter verklaring van het geringe aantal abortus dat bij patiënten met een primair-regulaire cyclus werd gezien.

8.4. Samenvatting

Onafhankelijk van de aard van de ovulatiestoornis en voor zover gemeten, van de niveaus van het FSH en het LH in de follikelfase weken de waarden voor oestradiol in het plasma en pregnaandiol in de ochtendurine, die in conceptie cycli met daarop volgende normale zwangerschap werden gemeten, tot de dag van nidatie niet af van de waarden die bij gezonde proefpersonen waren gemeten. Na de nidatie, dus nog vóór de dag waarop de menses zouden optreden, werd een stijging van het plasma-oestradiol en van de pregnaandiol excretie waargenomen. Ook het "LH" steeg, terwijl het FSH tot lage, vaak niet meetbare waarden daalde. Er werd reeds gevonden, dat de excretie van pregnaandiol een maat kan zijn voor de LH stimulatie van de thecacellen in het ovarium.

Conceptie bij een spontane ovulatie in aansluiting aan een behandeling met clomipheen vond meestal, maar niet altijd, plaats nadat de clomipheen behandeling had geresulteerd in een normale ovulatoire cyclus. Het feit dat conceptie plaats kon vinden wijst op herstel van de normale cyclische functie van de hypothalamo-hypofyse-ovariële as en het bleek dat bij deze patiënten ook op langere termijn normale cyclische ovariumfunctie aanwezig bleef. In drie van de vier cycli die door abortus werden gevolgd werd een sterk misvormde foetus of een

intacte vruchtzak zonder foetus gevonden. De twee cycli waarin dit laatste het geval was, waren gekenmerkt door klinische hyperstimulatie. Naast het misvormde vruchtje werd in het derde geval ook een normaal ontwikkeld (levend) foetus geboren, zodat in deze cyclus multipele ovulatie heeft plaatsgevonden. Alleen in de vierde cyclus die door abortus werd gevolgd leek er onvoldoende follikelrijping en mogelijk onvoldoende luteale activiteit te hebben bestaan. Echte insufficiëntie van het corpus luteum speelde voor zover te beoordelen slechts een ondergeschikte rol als oorzaak van abortus. Luteale fasen die korter duurden dan 10 dagen werden alleen bij patiënten met secundaire amenorrhoe gevonden. In de follikelfase van deze cycli was er een scherpe stijging van het plasma-oestradiol, waarschijnlijk veroorzaakt door een goede FSH stimulatie tijdens de clomipheen toediening. In de rest van de cyclus waren steeds zowel het LH als het FSH laag. Het LH steeg niet in de periode dat het plasma-oestradiol toenam: er was dus een stoornis in de positieve feedback van oestradiol op de LH afgifte. Het is op grond van dit onvoldoende LH niet aannemelijk dat ovulatie heeft plaatsgevonden. Het "corpus luteum" schoot tekort in de productie van alle drie gemeten hormonen. Luteale fasen tussen 10 en 12 dagen werden ook bij patiënten met oligomenorrhoe gezien. Hier schoot, naar het zich liet aanzien, vooral het FSH tekort. In de luteale fase was vooral de pregnaandiol excretie laag; het plasma-oestradiol was meestal normaal. De veronderstelling werd geuit, dat de duur van de luteale fase geregeld werd door de geproduceerde oestrogenen.

Behalve bij een patiënt met hyperprolactinaemie gelukte het bij alle patiënten met korte luteale fase door toediening van hogere doses clomipheen een normale ovulatoire reactie te krijgen.

Lange luteale fasen, met een BTC elevatie die langer

dan zestien dagen duurde, kwamen alleen voor bij patiënten met klassieke oligomenorrhoe (groep B); een passende verklaring voor het fenomeen kon niet worden gegeven. Zij werden gezien zowel na toediening van lage als van hoge doses clomipheen. Er bleken echter aanwijzingen te zijn, dat in een deel van deze cycli conceptie had plaatsgevonden.

Van hyperstimulatie werden drie vormen onderscheiden; alleen de vorm waarbij in beide cyclusfasen een te krachtige reactie van het ovarium wordt gevonden blijkt op iatrogene hyperstimulatie te berusten.

Echte hyperstimulatie werd vrijwel alleen in cycli met conceptie of met een lange luteale fase gezien, en dan nog alleen wanneer clomipheen in hoge doses werd gegeven. Bij patiënten met het syndroom van de polycysteuze ovaria werd het verschijnsel niet waargenomen.

Het onderzoek was opgezet om de vraag te beantwoorden, of een ongunstige hormonale situatie in cycli van patiënten die na clomipheen toediening herhaaldelijk ovuleerden, maar bij wie het, na uitsluiting van andere de fertiliteit negatief beïnvloedende factoren niet tot conceptie kwam, voor het mislukken van de therapie verantwoordelijk was.

Bij zes patiënten werden steeds ovulatoire reacties zonder conceptie gezien. Drie van hen (b-7, b-9 en c-3) vertoonden adipositas en/of hirsutisme, één, b-2, had ovaria met ernstige afwijkingen, maar een duidelijk herkenbare groep vormden zij niet. Bij drie patiënten (b-2, b-4 en b-10) kwamen lange luteale fasen voor. Vier (b-2, b-4, b-9 en c-3) vertoonden in de oriëntatie (tabel VI-2) een laag-normaal FSH, drie (b-2, b-9 en c-3) bovendien een hoog-normaal LH. Bij patiënt b-10 werden na vermagering normale FSH waarden en een laag-normaal LH gemeten. Tevoren had ook zij de boven beschreven afwijkingen.

Aangetoond werd, dat in cycli van patiënten met een hoog

LH en een laag FSH in de follikelfase van de cyclus, in de luteale fase minder pregnaandiol wordt uitgescheiden dan normaal en dat deze dysregulatie vooral voorkomt bij vrouwen met polycysteuze ovaria.

In de literatuur werd gevonden, dat de toename van het oestradiol in de follikelfase van spontane cycli bij deze vrouwen gering is. De patiënten uit het onderzoek reageerden na toediening van normale doses clomipheen op identiek wijze. Wanneer méér clomipheen dan normaal werd toegediend, normaliseerde het verloop van het oestradiol zich, maar in de excretie van pregnaandiol werd nauwelijks verbetering gezien. Het niet verbeteren van de corpus luteum functie duidt op een anatomische beschadiging en het meest waarschijnlijk is, dat in de loop van de follikelrijping beschadiging van de granulosa en van de oöcyt is opgetreden.

Bij twee patiënten, b-4 en b-10, werden de afwijkingen in het verloop van de gemeten hormoonspiegels niet gezien: zij leken steeds normaal te ovuleren.

Het is waarschijnlijk dat mechanismen die vooralsnog alleen met klinische intuïtie benaderd kunnen worden het uitblijven van conceptie bij deze patiënten veroorzaakten. Gewezen kan worden op de zeer snelle vermagering bij patiënt b-10 en op het feit, dat patiënt b-4 de enige was in de groepen A, B en C die ondergewicht vertoonde. Dergelijke patiënten zijn niet zeldzaam: zij worden veelvuldig gezien op de poliklinieken voor niet-endocriene vruchtbaarheidsstoornissen.

Veelal wordt na uitvoerig onderzoek in dergelijke gevallen de "diagnose" : "onbegrepen fertiliteitsstoornis" gesteld.

In dit proefschrift werd naar vermogen getracht de kliniek van anovulatoire infertiliteit aan experimentele gegevens te verbinden. Veel meer vragen kwamen naar voren dan er konden worden beantwoord.

Het is te hopen, dat het over enige tijd mogelijk zal

zijn, ook voor deze categorie van onbegrepen stoornissen in de ovulatie- en conceptiemechanismen een passende verklaring te vinden.

Literatuur

1. Barton M., Wiesner B.P., Lancet ii:663, 1945.
2. Boon R.C., Schaleh D.S., Lee L.A., Reichlin S., Am. J.Obstet.Gynecol. 112:736, 1972.
3. Butler W.R., Hotchkiss J., Knobil E., Endocrinology 96:1509, 1975.
4. Canales E., Zarate A., Gonzales A., MacGregor C., Villalobos M., Delgado J., Int.J.Fertil. 18:182, 1973.
5. Corker C.S., Michie E., Hobson B., Parboosingh J., Brit.J.Obstet.Gynaecol. 83:489, 1976.
6. Correy J.F., Schokman F.C.M., Austr.N.Z.J.Obstet. Gynaecol. 16:40, 1976.
7. Dignam W.J., Parlow A.F., Daane T.A., Am.J.Obstet. Gynecol. 105:679, 1969.
8. Febres F., Gondos B., Siiteri P.K., Gynecol.Invest. 7:52, 1976.
9. Friedman S., Obstet.Gynecol. 41:809, 1973.
10. Gambrell R.D., Greenblatt R.B., Mahesh V.B., Obstet. Gynecol. 38:850, 1971.
11. Gambrell R.D., Greenblatt R.B., Mahesh V.B., Obstet. Gynecol. 42:429, 1973.
12. Givens J.R., Wiser W.L., Coleman S.A., Wilroy R.S., Andersen R.N., Fish S.A., Am.J.Obstet.Gynecol. 110: 959, 1971.
13. Goldzieher J.W., Dozier I.S., Smith K.D., Steinberger E., J.Clin.Endocrinol.Metab. 43:824, 1976.
14. Hall E.V. van, Mastboom J.L., Am.J.Obstet.Gynecol. 103:165, 1969.
15. Harman S.M., Louvet J.P., Ross G.T., Endocrinology 96:1145, 1975.
16. Horton R., Tait J.F., J.Clin.Invest. 45:301, 1966.
17. Horton R., Neisler J., J.Clin.Endocrinol.Metab. 28:479, 1968.
18. Ipsen J., Jerne N.K., Acta Pathol. 21:343, 1944.
19. Jones G.S., de Moraes-Ruehsen M., Am.J.Obstet.Gynecol. 99:814, 1967.

20. Jones G.S., Maffezoli R.D., Strott C.A., Ross G.T., Kaplan G., *Am.J.Obstet.Gynaecol.* 108:847, 1970.
21. Kjeld J.M., Marsoulis P., Nader S., Kuku S.F., Fraser T.R., *Brit.J.Obstet.Gynaecol.* 82:379, 1975.
22. Kletzky O.A., Davajan V., Nakamura R.H., Mishell jr. D.M., *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 41:660, 1975.
23. Lehmann F., Neale Ch., Bettendorf G., *Acta Endocrinol.* 66:suppl. 152, p. 70, 1971.
24. MacArthur J.W., Ingersoll F.M., Worcester J., *J. Clin.Endocrinol.Metab.* 18:1202, 1958.
25. MacDonald P.C., Rombaut R.P., Siiteri P.K., *J.Clin. Endocrinol.Metab.* 27:1103, 1967.
26. MacDonald P.C., Grodin J.M., Siiteri P.K., in "Progress in Endocrinology". (G. Gual ed.). Vol. 184: 770, *Excerpta Medica*, Amsterdam, 1969.
27. MacDonald P.C., Siiteri P.K., *Gynecol.Oncology* 2: 259, 1974.
28. Mahesh V.B., Greenblatt R.B., *Nature* 191:888, 1961.
29. Mahesh V.B., Greenblatt R.B., *J.Clin.Endocrinol. Metab.* 22:491, 1962.
30. Matthews C.D., Cox, L.W., *Fertil.Steril.* 24:758, 1973.
31. Mauvais-Jarvis P., Scholler M., *Presse Med.* 75:1971, 1967.
32. Murthy Y.S., Parekh M.C., Arronet G.H., *Int.J.Fertil.* 16:66, 1971.
33. Naftolin F., Ryan K.J., Petro Z., *Endocrinology* 90: 295, 1972.
34. Nimrod A., Lindner H.R., *Molec.Cellul.Endocrinol.* 5:315, 1976.
35. Nygren K.G., Johansson E.D.B., Wide L., In: C.R. Symp.Int.Sur l'exploration de la Grossesse, Paris-Fresnes 1973, ed. Sepe, Paris 1974, p. 239.
36. Osmond Clarke F., Murray M., Bishop P.M.F., *J.Obstet.Gynaecol.Brit.Cwlth.* 75:531, 1968.
37. Pennington G.W., Atlay R.D., *J.Obstet.Gynaecol.Brit.*

Cwlth. 79:651, 1972.

38. Pepperell R.J., Brown J.B., Evans J.H., Rennie G.C., Burger H.G., Brit.J.Obstet.Gynaecol. 82:321, 1975.
39. Pepperell R.J., Burger H.G., de Kretser D.M., Rennie G.C., Brit.J.Obstet.Gynaecol. 83:68, 1976.
40. Pildes R.B., Am.J.Obstet.Gynecol. 91:466, 1965.
41. Poortman J., Geslachtshormonen en Mammacarcinoom. Proefschrift, Utrecht, 1973. p. 122.
42. Rebar R., Judd H.L., Yen S.S.C., Rakoff J., Vandenberg G., Naftolin F., J.Clin.Invest. 57:1320, 1976.
43. Robertson D.M., Mester J., Kellie A.E., Acta Endocrinol. 68:523, 1971.
44. Roy S., Greenblatt R.B., Mahesh V.B., Junck E.C., Fertil.Steril. 14:575, 1963.
45. Rust L.A., Israel R., Mishell D.R., Am.J.Obstet.Gynecol. 120:785, 1974.
46. Santen R.J., Bardin C.W., J.Clin.Invest. 52:2617, 1973.
47. Saxena B.N., Poshyachinda V., Dusitsin N., Brit.J. Obstet.Gynaecol. 83:660, 1976.
48. Schindler A.E., Ebert A., Friedrich E., J.Clin.Endocrinol.Metab. 28:479, 1968.
49. Sherman B.M., Korenman S.G., J.Clin.Endocrinol.Metab. 38:89, 1974.
50. Sherman B.M., Korenman S.G., J.Clin.Endocrinol.Metab. 39:145, 1974.
51. Strott C.A., Cargille C.M., Ross G.T., Lipsett M.B., J.Clin.Endocrinol.Metab. 30:246, 1970.
52. Swyer G.I.M., Radwanska E., MacCarrigle H.H.G., Brit. J.Obstet.Gynaecol. 82:794, 1975.
53. Taymor M.L., Barnard R., Fertil.Steril. 13:501, 1962.
54. Tietze K., Arch.Gynäkol. 176:228, 1948.
55. Tsafriri A., Pomerantz S.H., Channing C.P., Biol. Reprod. 14:511, 1976.
56. Twombly G.H., Scheiner S., Levitz M., Am.J.Obstet. Gynecol. 82:424, 1961.

57. Vaitukaitis J.L., Bermudez J.A., Cargille C.M.,
Lipsett M.B., Ross G.T., J.Clin.Endocrinol.Metab.
32:503, 1971.
58. Warren J.C., Salhanick H.A., J.Clin.Endocrinol.Metab.
21:1218, 1961.
59. Whitelaw M.J., Kalman C.F., Grams L.R., Am.J.Obstet.
Gynecol. 107:865, 1970.
60. Yen S.S.C., Vela P., Rankin J., J.Clin.Endocrinol.
Metab. 30:435, 1970.
61. Yen S.S.C., Vela P., Ryan H.J., J.Clin.Endocrinol.
Metab. 31:7, 1970.

Samenvatting

De vraagstelling van dit onderzoek: *"Bestaat er bij de categorie patiënten met oligomenorrhoe of secundaire amenorrhoe en kinderwens die na toediening van clomipheen, een ovulatie-inducerende stof, steeds of bijna steeds ovuleert zonder dat zwangerschap ontstaat, een mogelijk met adipositas en hirsutisme samenhangende hormonale situatie die conceptie bemoeilijkt of onmogelijk maakt?"*, komt voort uit een beoordeling achteraf van de resultaten met clomipheen in de eerste twee jaren dat het werd voorgeschreven aan vrouwen bij wie door het ontbreken van ovulaties een vruchtbaarheidsstoornis bestond (hoofdstuk I).

De hoofdstukken II en III bevatten het literatuuronderzoek dat op deze vraagstelling betrekking heeft. In hoofdstuk II worden de farmacologische eigenschappen van clomipheen besproken en wordt ingegaan op het vermoedelijke werkingsmechanisme van de stof. Clomipheen is een oestrogeen met een affiniteit met de oestradiol receptor in targetcellen die een factor 10^3 lager ligt dan die van oestradiol. Eénmaal aan de receptor gebonden, activeert het het kernchromatine weinig effectief. Wanneer dus voldoende clomipheen in circulatie is om met succes met oestradiol voor de oestrogeen receptoren te concurreren kan het de effecten van oestradiol op de hypofysaire gonadotropinen afgifte tegengaan. Er ontstaat een tijdelijke ontremming van deze afgifte: de bloedspiegels van LH en FSH stijgen en follikelgroei en oestradiol productie treden op. De laatste beperkt de duur van het clomipheen effect en kan, bij voldoende activiteit van de hypothalamus en bij voldoende hypofysaire capaciteit de LH afgifte stimuleren zodat een ovulatie kan optreden.

In hoofdstuk III komt de literatuur over de klinische toepassing van clomipheen aan de orde. Er worden aanwijzingen gevonden, dat bij patiënten met oligomenorrhoe méér clomipheen behandelingen door ovulatie worden gevolgd dan bij patiënten met secundaire amenorrhoe, maar dat het aantal zwangerschappen in beide groepen gelijk is. Vooral bij patiënten met oligomenorrhoe is de discrepantie tussen het aantal ovulaties dat wordt gezien en het aantal zwangerschappen dat ontstaat opvallend.

De conceptieverwachting na ovulatie-inductie met clomipheen is slechter dan die van de normale populatie. Deze slechtere prognose wordt met grote waarschijnlijkheid veroorzaakt doordat een aantal patiënten ondanks ovulatoire reacties in het geheel niet tot conceptie komt: het merendeel van de patiënten die zwanger worden wordt dit in de eerste drie behandelingscycli.

Een aantal hormonaal bepaalde oorzaken voor het uitblijven van conceptie wordt hierna besproken. Een veel gehoorde verklaring voor het uitblijven van conceptie na behandeling met clomipheen is, dat door de "anti-oestrogene" werking van clomipheen de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm in de prae- en peri-ovulatoire periode van de cyclus zodanig zijn verslechterd, dat spermatozoënpenertratie niet kan plaatsvinden. De opvatting wordt verdedigd dat dit "slechte" cervixslijm ontstaat door onvoldoende oestradiol productie in het ovarium. In de recente literatuur wordt onvoldoende functie van het corpus luteum, "luteale insufficiëntie", meestal aangevoerd als oorzaak voor het uitblijven van conceptie. Onvoldoende hormoonproductie van het corpus luteum blijkt steeds te berusten op een stoornis in de follikelfase van de cyclus. In deze periode heeft relatief of absoluut onvoldoende FSH-stimulatie van het ovarium plaatsgevonden, in combinatie met onvoldoende, normale of te krachtige LH-stimulatie. In het eerste

geval ontstaat een korte luteale fase, die minder dan twaalf dagen duurt; in het tweede en derde is de duur van de luteale fase normaal, maar is er onvoldoende progesteron productie.

Zonder inspectie van de ovaria of aantonen van een ovum is het onmogelijk om uit te maken of ovulatie al dan niet plaatsvond. In de praktijk is het verstandig om aan te nemen, dat in gevallen van luteale insufficiëntie geen normale ovulatie is opgetreden, omdat verwacht mag worden dat door ontijdige of te krachtige LH stimulatie de granulosa van de rijpende follikels is beschadigd en de oöcyt is gedegenerereerd. Het is dan ook aan nemelijk, dat de korte luteale fase wordt veroorzaakt door luteïnisatie van niet gesprongen follikels; wanneer in een luteale fase van normale duur onvoldoende progesteron secretie werd gevonden kan ovulatie zijn opgetreden. De kans is echter groot, dat de oöcyt teernstig is beschadigd om bevrucht te kunnen worden of na de conceptie zeer snel te gronde gaat, zoals in de lange luteale fase het geval kan zijn.

In hoofdstuk IV worden de laboratoriumbepalingen besproken.

Er is gekozen voor bepalingen van oestradiol, testosteron en de gonadotropinen in het bloed, omdat met bepalingen in de urine een grote bepalingsfrequentie onpraktisch zou zijn. Voor de excretie van pregnaandiol in de urine wordt gebruik gemaakt van een gaschromatografische methode, die het mogelijk maakt om zonodig dagelijks in ochtendurine's de pregnaandiol en pregnaantriol excretie per gram creatinine te meten.

Hoofdstuk V geeft een beschrijving van het verloop van oestradiol, LH, FSH en testosteron in het bloed en van de uitscheiding van pregnaandiol en pregnaantriol in de urine gedurende een cyclus van zes spontaan ovulerende vrouwen. Vier van hen hadden een bewezen goede fertiliteit. Onderzoek met behulp van probits en met de rankit-

toets levert argumenten op om een log-normale verdeling van de genoemde hormonen behalve testosteron en pregnaandiol aan te nemen; de 95% betrouwbaarheidsintervallen waarbinnen de bij de zes proefpersonen gevonden waarden kunnen liggen worden dan ook bepaald alsof zij uit een log-normale verdeling stammen. Hoofdstuk V wordt besloten met een beschrijving van de fluctuaties van oestradiol, progesteron, 17α hydroxyprogesteron, LH en FSH gedurende de menstruele cyclus, waarbij de in het eigen onderzoek verkregen gegevens over de excretie van pregnaandiol en pregnaandiol met de literatuur gegevens over het verloop van de progesteron en 17α hydroxyprogesteron werden vergeleken. De gevonden curves komen goed overeen met de gegevens uit de literatuur. In de excretie van de metabolieten kan het verloop van de actieve hormonen herkend worden.

Het eigenlijke onderzoek wordt beschreven in de hoofdstukken VI, VII en VIII. Om de vraagstelling te beantwoorden wordt een longitudinaal onderzoek verricht, waarin gedurende twee jaar bij alle patiënten met kinderwens die met clomipheen behandeld worden het serum-LH en -FSH, het plasma-oestradiol, de excretie van pregnaandiol en pregnaandiol en de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm zo frequent mogelijk worden bepaald. De gemeten hormoonwaarden worden vergeleken met de referentie curves die in hoofdstuk V zijn besproken, nadat op geleide van de basale temperatuurcurve, het uitscheidingspatroon van pregnaandiol en pregnaandiol, de fysisch-chemische eigenschappen van het cervixslijm en anamnestiche gegevens de vermoedelijke dag waarop de ovulatie optrad zo nauwkeurig mogelijk is vastgesteld. In hoofdstuk VI wordt de selectieprocedure besproken. Nadat afwijkingen buiten het hypothalamo-hypofyse-ovariële systeem en verminderde vruchtbaarheid van de partner zoveel mogelijk zijn uitgesloten, worden veertig patiënten geselecteerd, die na toediening van progesteron

op zijn minst een toename van het serum-LH vertonen. Zij worden op grond van de bloedingsanamnese en van het al dan niet acuut ontstaan van de menstruatiestoornis in verschillende groepen ondergebracht. Drieëntwintig patiënten hebben een oligomenorrhoe; slechts één van hen heeft na de menarche gedurende een aantal jaren reguliere cycli gehad. Vier patiënten vertonen redelijk frequent vaginaal bloedverlies (maximale duur van het interval zes weken), dat af en toe naar alle waarschijnlijkheid vooraf gegaan werd door een ovulatie. Zij vormen groep A. Tien patiënten vertonen een oligomenorrhoe met een interval tussen zes weken en vier maanden: zij vormen groep B. Groep C bestaat uit negen patiënten die niet vaker dan twee maal per jaar vaginaal bloedverlies hebben. Alle patiënten uit de groepen A, B en C vertonen een normaal (7-40 mE/ml.) of vrij hoog niveau van het serum-LH. Dit niveau lijkt samen te hangen met de frequentie van vaginaal bloedverlies: in groep C worden de hoogste LH waarden gemeten, in groep A de laagste. Ook het niveau van het plasma-oestradiol toont verschillen: de patiënten uit groep B hebben de hoogste oestradiol waarden, die uit groep C de laagste. De FSH-niveaus tonen geen duidelijke verschillen.

Zeventien patiënten hebben een secundaire amenorrhoe. Zij worden ondergebracht in twee groepen, één met een "spontaan" begin van de secundaire amenorrhoe, groep D, en een groep E van zes patiënten met secundaire amenorrhoe na het staken van hormonale contraceptie. Omdat deze laatste groep geen karakteristieke verschillen ten opzichte van de patiënten uit groep D blijkt te vertonen, worden deze twee groepen gezamenlijk beschouwd.

Zeven patiënten met secundaire amenorrhoe hebben vanaf de menarche een irregulaire cyclus vertoond. Deze patiënten onderscheiden zich in het algemeen van de tien patiënten bij wie de secundaire amenorrhoe acuut of na het staken van hormonale contraceptie is ontstaan door

een hoger niveau van LH en oestradiol en van de excretie van 17 ketosteroiden in de urine. Er worden geen bijzondere kenmerken bij patiënten met post pil amenorrhoe gevonden. Patiënten met ondergewicht komen vooral voor in de groep met acuut begonnen secundaire amenorrhoe. Voor deze patiënten lijkt een laag niveau van het LH karakteristiek te zijn. Het FSH-niveau blijkt normaal, maar dit is naar alle waarschijnlijkheid een gevolg van de toegepaste selectie. De enige groep met een betrekkelijk laag niveau van het FSH wordt gevormd door de patiënten met overgewicht en/of hirsutisme, voor zover zij vanaf de menarche een irregulaire cyclus hebben vertoond.

In Hoofdstuk VII worden de resultaten van de ingestelde therapieën behandeld. Na toediening van clomipheen treedt geen ovulatie op bij patiënten met een laag niveau van het serum-LH en slechts bij uitzondering bij patiënten met lage gemeten oestradiol waarden en een hoog niveau van het serum-LH.

Luteale fasen die korter dan tien dagen duren worden alleen bij drie patiënten met een laag-normaal LH gevonden. Alleen bij een patiënt met hyperprolactinaemie wordt na toediening van hogere doses clomipheen geen normale duur van de luteale fase verkregen. Alle andere patiënten die na behandeling met normale doses clomipheen (5 x 50 mg. of 5 x 100 mg.) een korte luteale fase hebben vertoond worden zwanger na behandeling met hogere doses clomipheen.

De resultaten van clomipheen toediening aan zestien patiënten met een normaal LH (en FSH) niveau zijn goed. Tien van hen krijgen een normale zwangerschap, eventueel nadat de clomipheen dosis is verhoogd.

Slechte resultaten worden geboekt bij behandeling met clomipheen van patiënten met een hoog-normaal of hoog niveau van het serum-LH (die het merendeel van de groepen B en C vormen). Van de achttien patiënten krijgen

er slechts drie een voldragen zwangerschap. Abortus komt voornamelijk bij deze patiënten voor. Bij de patiënten uit groep B worden lange luteale fasen (> 16 dagen) gezien.

Een ongunstige invloed van adipositas en/of hirsutisme op de fertiliteitsprognose kan niet worden aangetoond. Het blijkt, dat het duidelijk aanwezige verschil tussen het aantal concepties na clomipheen therapie bij patiënten met een hoog LH en de patiënten met een normaal LH post of propter verdwijnt door additionele therapie (vermagering of toediening van een lage dosis prednison) of door het verrichten van een bilaterale wigexcisie uit de ovaria. Patiënten die met deze agressieve therapie worden behandeld hebben polycysteuze ovaria met overmatige androgenen productie en hebben niet of onvoldoende gereageerd op behandeling met clomipheen in hoge dosering.

Hoofdstuk VIII tenslotte beschrijft het verloop van de gemeten hormonen in 51 cycli van de 40 patiënten. Van elf patiënten die een voldragen zwangerschap krijgen zijn bij acht, onafhankelijk van de aard van de ovulatiestoornis, de waarden van het plasma-oestradiol en van de pregnaandiol excretie normaal. Twee maal worden voor beide hormonen hogere waarden in de geïnduceerde cyclus gevonden, één maal laag-normale. Conceptie bij spontane ovulatie vindt vrijwel steeds plaats nadat clomipheen behandeling tot een ovulatoire cyclus met tenminste een normaal verloop van de gemeten hormoon waarden heeft geleid. In drie van vier gevallen van beproefde abortus na clomipheen therapie wordt hyperstimulatie of multi-pele ovulatie gevonden. Argumenten voor onvoldoende activiteit van de corpora lutea in deze cycli zijn er dus niet.

In cycli met korte luteale fasen wordt in de follikelfase een forse stijging van het plasma-oestradiol waargenomen, die géén stimulatie van het serum-LH veroor-

zaakt. Zowel LH als FSH zijn zeer laag in de periode dat het plasma-oestradiol hoog is. Het "corpus luteum" schiet tekort in de productie van alle drie gemeten hormonen en er wordt gesuggereerd dat in deze gevallen geen ovulatie heeft plaatsgevonden, maar luteïnisatie van een al dan niet rijpe follikel.

Een lange luteale fase die meer dan zestien dagen aanhoudt, wordt bij vijf patiënten één of meer malen gezien. Het verschijnsel blijkt bij vier patiënten mogelijk te berusten op het optreden van conceptie, waarbij de zwangerschap in een zeer vroeg stadium te gronde ging.

In vier cycli met lange luteale fase wordt hyperstimulatie waargenomen. Echte hyperstimulatie, die zowel in de follikelfase als in de luteale fase merkbaar is en tot klachten aanleiding geeft wordt alleen gezien bij patiënten met morfologisch normale ovaria.

Zes patiënten lijken na toediening van clomipheen steeds te ovuleren, maar komen niet tot conceptie. Bij alle zes wordt een hoog basis LH en een laag-normaal FSH niveau gezien, allen hebben vrij hoge basale plasma-oestradiol waarden.

Vier van deze patiënten vertonen in de luteale fase van een ovulatoire cyclus die na toediening van 5×100 mg. clomipheen optrad een lage of marginale excretie van pregnaandiol. Het oestradiol in de luteale fase is normaal; in de follikelfase lijkt de toename van het plasma-oestradiol kort prae-ovulatoir onvoldoende te zijn. Toediening van hogere doses clomipheen resulteert in een normaal worden van het folliculaire oestradiol verloop, zonder dat het in de luteale fase tot een duidelijk betere excretie van pregnaandiol komt. Verondersteld wordt, dat de beschreven afwijkingen zijn ontstaan door beschadiging van de granulosa in de follikelfase. Deze veronderstelling is gebaseerd op de waargenomen onvoldoende pregnaandiol excretie in deze cycli

en op de overeenkomst met gegevens die worden verkregen in conceptiecycli die in abortus eindigen of die een lange luteale fase vertonen, namelijk hoge LH-waarden in de follikelfase.

Het antwoord op de oorspronkelijke vraagstelling kan als volgt worden geformuleerd:

Bij anovulatoire patiënten met hoge oestradiol spiegels treedt na toediening van clomipheen relatief of absoluut te weinig FSH stimulatie op. Te krachtige of te vroege LH stimulatie beschadigt de granulosa van de rijpende follikel, waardoor de oöcyt kan degenereren en waardoor na de LH piek onvoldoende progesteron secretie optreedt. Onvoldoende oestradiol secretie in de prae-ovulatoire fase weerspiegelt de onvoldoende FSH stimulatie. Met hogere doses clomipheen is het mogelijk krachtiger FSH stimulatie te doen ontstaan. De stoornis in de LH stimulatie blijft echter meestal aanwezig, zodat het boven geschetste mechanisme werkzaam blijft. De oorzaak van deze dysregulatie van de gonadotropinen afgifte kon niet onderzocht worden. Literatuurgegevens wijzen in de richting van een te grote productie van androsteendion, dat in oestrogeen kan worden omgezet. Deze productie en conversie kan beïnvloed worden door conservatieve maatregelen, als bij voorbeeld vermageren wanneer adipositas bestaat.

Wanneer het duidelijk is, dat hoge doses clomipheen niet tot conceptie voeren en aannemelijk gemaakt kan worden, dat de ovaria de bron van de androgenen productie zijn, is een bilaterale wigexcisie uit de ovaria de aangewezen therapie.

Summary

"Is there a common basic hormonal disturbance, possibly related to obesity and hirsutism, in the group of patients with anovulatory infertility that almost always appear to ovulate with clomiphene therapy, but do not achieve a normal pregnancy?"

This question raised when we evaluated the results obtained with clomiphene, an ovulation inducing substance, during the first two years of its routine prescription to women with anovulatory infertility (chapter I). In this thesis it is tried to provide the answer.

In chapters II and III the literature on this subject is discussed. Chapter II deals with the pharmacological properties of clomiphene and with its possible mode of action. The drug is an oestrogen, but has about a thousand times less affinity to the oestrogen receptors in target cells than oestradiol. Once bound to the receptors, it stimulates the nuclear chromatin of the target cells weakly. When there is sufficient clomiphene to compete successfully with oestradiol for the oestrogen receptors, it is able to counteract the effects of oestradiol on hypophyseal gonadotropin release. As a result hypophyseal gonadotropin (LH and FSH) release is unrestrained and follicular growth occurs. Consequently increased oestradiol production takes place. The latter restricts the duration of the clomiphene effect. If the hypothalamus is sufficiently active and if the hypophysis has an adequate capacity for LH release the raising oestradiol levels can provoke an LH-surge resulting in ovulation.

The literature on the clinical use of clomiphene is reviewed in chapter III. It is found that, although more patients with oligomenorrhoea appear to ovulate

after clomiphene therapy than patients with secondary amenorrhoea, the number of pregnancies resulting is practically the same in both groups. There is therefore a discrepancy between ovulation rate and conception rate especially among patients with oligomenorrhoea. The expectation of conception after ovulation induction with clomiphene appears to be less than in the "normal" population. This poor prognosis is almost certainly due to a number of patients not conceiving at all despite apparent ovulatory cycles, most of the pregnancies occurring in the first, second or third induced cycle. Subsequently, a number of hormonally determined factors leading to infertility is discussed. Firstly, the opinion is given that deficient physico-chemical properties of the cervical mucus in the prae-ovulatory period of the cycle result from insufficient oestradiol production in the growing follicle. This so called cervical hostility is not a cause of infertility per se. More recently, in the literature insufficient activity of the corpus luteum, generally called "luteal insufficiency", has been proposed as a main cause of failure to conceive. It appears that insufficient hormone production in the luteal phase of the cycle is always preceded by disturbance of gonadotropic stimulation in the follicular phase. Insufficient FSH stimulation together with inappropriate, be it insufficient or excessive, LH activity are found. In the former case a short luteal phase results with a span of less than 12 days; in the latter case the duration of the luteal phase is normal, but progesterone secretion is insufficient.

Without inspection of the ovaries or recovery of an ovum it is impossible to determine whether ovulation has taken place or not. In practice, it is safe to assume that in luteal insufficiency no normal ovulation takes place, since it is to be expected that in-

appropriate LH stimulation damages the granulosa layer of the growing follicles and causes the oöcyte to degenerate. In the case of a short luteal phase luteinisation of unruptured follicles probably occurs, while in cases with insufficient progesterone secretion the follicle may or may not have ruptured. In case of ovulation however the oöcyte may be too severely damaged for fertilisation to occur.

Chapter IV deals with the laboratory determinations. Plasma determinations of oestradiol, testosterone and gonadotropins were preferred, because it is impractical to perform frequent determinations of these hormones in urine. Gas-liquid chromatography is used for the determination of pregnanediol and pregnanetriol in urine, because the small volume of urine needed enabled us to perform the determinations on early morning specimens. The results were related to the amount of creatinine excreted.

Chapter V describes the pattern of daily determinations of oestradiol, LH, FSH and testosterone in blood and the excretion of pregnanediol and pregnanetriol in urine during a cycle of six spontaneously ovulating women, four of which with proven fertility. The results are investigated by means of probit transformation and the rankit-test and we decided to assume a log-normal distribution of the above mentioned hormones except pregnanetriol and testosterone. The 95% confidence limits of the values obtained on separate days are determined as if they came from a log-normal distribution. The chapter is concluded with a description of the daily variations of oestradiol, progesterone, 17α hydroxyprogesterone, LH and FSH during the menstrual cycle, as found in the literature. The pregnanediol and pregnanetriol excretion patterns as found in our own investigation were compared with the data on progesterone and 17α hydroxyprogesterone from the literature; they agree

well.

Chapter VI, VII and VIII contain the investigation proper. A longitudinal study is performed during a two year period on patients with anovulatory infertility that were treated with clomiphene. Frequent determinations of LH, FSH, oestradiol, pregnanediol and pregnanetriol excretion and examination of the physico-chemical properties of the cervical mucus were performed. The hormone values in cycles where ovulation probably occurred are compared to the reference curves.

Chapter VI deals with preliminary investigations and selection of the patients. Forty women were selected. Their infertility was caused only by failure to ovulate. All of them showed an increase of plasma-LH after progesterone injection. According to their history they were allotted to different groups. Twenty-three women had a history of oligomenorrhoea; only one of them had a regular cycle during some years since menarche, all others were irregular from the onset of vaginal bleeding. Four patients showed reasonably frequent vaginal blood loss with a maximum of the interval of six weeks. They constitute group A. Ten patients had an interval between vaginal blood loss from six weeks to four months; they form group B. Group C consists of nine patients who experienced vaginal bleeding less than three times a year. All patients from groups A, B and C showed a normal (7-40 mU/ml.) or rather high level of serum-LH. The LH level appears to be related to the frequency of vaginal blood loss: levels were highest in group C and lowest in group A. The plasma-oestradiol levels also show differences; in group B oestradiol levels were highest, in group C lowest. In the level of serum-FSH no differences were apparent.

Seventeen patients had a secondary amenorrhoea. They were allotted to two groups, one consisting of eleven women with a "spontaneous" onset of secondary amenorrhoea,

group D and another one, group E, in which six patients with secondary amenorrhoea after discontinuation of hormonal contraception are placed. Because the patients in group E had no peculiar characteristics when they are compared with the patients from group D, the two groups are discussed together.

Seven of the patients with a secondary amenorrhoea had experienced menstrual irregularity from the menarche. These patients are characterised by higher levels of serum-LH, plasma-oestradiol and 17 ketosteroid excretion compared to the ten patients with a more or less acute onset of the menstrual disturbance. Underweight patients are found mainly in the latter group. A low LH level appears to be characteristic of them. The level of FSH appears to be normal, but this is probably caused by the way the patients were selected. Relatively low levels of serum-FSH, with values less than 4 mU/ml. are encountered in patients with obesity and/or hirsutism and irregular cycles from the menarche. Chapter VII discusses the results of different forms of treatment.

After clomiphene therapy no ovulation occurred in patients with low LH-levels. Patients with low oestradiol (less than 100 pg/ml.) and high LH levels ovulated sporadically. Very short luteal phases with a span of less than ten days were encountered only in patients with low-normal LH levels. All patients who had a short luteal phase after they had been treated with normal dosages of clomiphene (50 or 100 mg. daily for five days) conceived after they had been treated with higher dosages, except one, a patient with hyperprolactinaemia. Of sixteen patients with a normal level of LH (and FSH) ten became pregnant and came to term. Sometimes the dosage of clomiphene had to be increased before pregnancy was obtained.

Of eighteen patients with a high-normal or high LH le-

vel only three got a term pregnancy after therapy with clomiphene only. It is mainly in this group of patients, the majority of whom are in groups B and C, that spontaneous abortion occurred and long luteal phases were seen.

An unfavourable influence of obesity and/or hirsutism on fertility could not be demonstrated.

The significant difference between the number of conceptions in patients with a normal LH level and the number of conceptions in patients with high LH levels disappears after additional measures (e.g. slimming or prescription of small dosages of prednisone in addition to the clomiphene therapy) have been taken or by performing a bilateral wedge resection of the ovaries. Patients on whom this operation was done had polycystic ovaries with elevated androgen production and did not show an adequate reaction to treatment with high dosages of clomiphene.

The concluding chapter VIII describes the course of the hormones measured during 51 cycles. Of eleven conception cycles resulting in normal pregnancy only one shows somewhat low values of plasma-oestradiol and pregnanediol excretion. In two, both oestradiol levels and pregnanediol excretion were somewhat higher than in the reference cycles; the other eight were perfectly normal. With one exception, all conceptions in spontaneous ovulatory cycles occurred after clomiphene treatment had resulted in a normal ovulatory cycle, so it can be deduced that the conditions prevailing in the hypothalamo-pituitary-ovarian axis had returned to normal.

In three of four cases of proven abortion after clomiphene therapy, an exaggerated response of both plasma-oestradiol and urinary pregnanediol and pregnanetriol excretion or multiple ovulation was found. Thus in these cycles, hyperstimulation instead of insufficient luteal activity is found.

In the above mentioned cycles with a short luteal phase a sharp increase of plasma-oestradiol in the follicular phase of the cycle was measured, which however did not cause an increase in LH level. Both LH and FSH are very low while oestradiol is very high. Clearly this means a disturbance of the normal positive LH feedback and it is suggested that in these cases no ovulation, but luteinisation of a great many unripe follicles occurs. In the luteal phase all hormones are below the level of the reference cycles.

A long luteal phase, lasting more than sixteen days, is seen in one or two cycles of five patients from group B. Four patients possibly had a very early abortion: in two of them a pregnancy test was dubiously positive and in all cycles the course of the hormones was undistinguishable from cycles with a normal conception.

Hyperstimulation is a feature of four of the cycles with a long luteal phase.

Clinical hyperstimulation, leading to slight patient discomfort, was noticed only in patients with normal ovarian morphology. In patients with polycystic ovaries, no clinical hyperstimulation was seen, however high the dosage of clomiphene. Six patients always appear to ovulate after clomiphene treatment, without becoming pregnant. All had a high basal LH level, a low-normal FSH level and rather high oestradiol levels. Four of the patients showed a low pregnanediol excretion in the luteal phase of cycles occurring after prescription of 5 x 100 mgm. clomiphene.

Luteal oestradiol values are normal. In the follicular phase however, the prae-ovulatory increase of plasma-oestradiol appears to be insufficient. When higher dosages of clomiphene are given, this oestradiol increase becomes normal, but the excretion of pregnanediol in the luteal phase of the cycle remains insufficient. Two patients had normal values for oestradiol and preg-

nanediol excretion, both after normal and higher dosages of clomiphene had been given.

Because all patients with proven abortion or long luteal phases showed high follicular LH levels just as the above mentioned six patients, the hypothesis is put forward that the failure to conceive in these patients is due to a damaged granulosa caused by inappropriate LH stimulation with concomitant degeneration of the oocyte.

The answer to the original question that prompted us to perform this investigation can be put as follows:

In patients with persistent high oestradiol levels due to chronic anovulation, relative or absolute insufficient FSH stimulation and inappropriate LH stimulation after clomiphene therapy damages the granulosa layer of the ripening follicle, ultimately resulting in oocyte degeneration and insufficient progesterone secretion after the LH surge has taken place. Insufficient oestradiol production in the follicular phase is probably the result of insufficient FSH stimulation.

With clomiphene in high dosages it is possible to produce a better FSH stimulation. The concomitant LH dysregulation however often is still active, so oocyte degeneration can still take place.

We were not able to investigate the cause of this gonadotropin dysregulation. Data from the literature point to increased production of androstenedione, a weak androgen that can be converted to oestrone. Oestrone in its turn can interfere with the feedback system regulating hypophyseal gonadotropin release. Whenever it is clear that high dosages of clomiphene do not lead to conception and it is possible to demonstrate that the ovaries are the source of excessive androgen production, bilateral wedge resection of the ovaries in our opinion is the therapy of choice.

